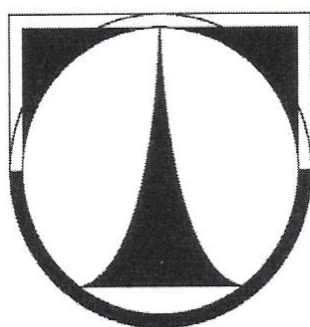


TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
FAKULTA TEXTILNÍ

Katedra textilního inženýrství

Studijní obor: Netkané textilie a nanovláknenné materiály

Studijní program: B3107 – Textil



Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků

KMI 600

Bc. Lenka Hanzlová

Vedoucí diplomové práce: Ing. Miroslava Pechočiaková PhD.

Rozsah práce a příloh:

Počet stran.....53

Počet obrázků.....29

Počet tabulek.....6

Počet příloh na CD.....1

V Liberci dne 8.1. 2016

**Podklad pro zadání DIPLOMOVÉ práce studenta**

<b>PŘEDKLÁDÁ:</b>	<b>ADRESA</b>	<b>OSOBNÍ ČÍSLO</b>
Bc. Hanzlová Lenka	Smetanova 28, Benátky nad Jizerou - Benátky nad Jizerou I	T13000127

**TÉMA ČESKY:**

Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků

**TÉMA ANGLICKY:**

Mechanical properties and variability of spiders fibres

**VEDOUCÍ PRÁCE:**

Ing. Miroslava Pechočiaková, Ph.D. - KMI

**ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ:**

1. Vypracujte literární rešerži z oblasti vláken produkovaných velkými ampulovitými žlázami pavouků. Popište vlastnosti pavoučích vláken, složení, "výroba" a možnosti použití. Zaměřte se na pavoučí hedvábí křížáka obecného.
2. Navrhněte a realizujte experiment pro zjištění mechanických a geometrických vlastností sledovaných pavoučích vláken.
3. Naměřená data statisticky zpracujte a výsledky interpretujte. Popište variabilitu vláken produkovaných velkými ampulovitými žlázami danou fylogenetickou rozmanitostí pavouků.

**SEZNAM DOPORUČENÉ LITERATURY:**

1. Felix, R.: Biology of spiders. Oxford University Press, Oxford and New York 2011.
2. Vollrath, F.: Biology of spider silk. International Journal of Biological Macromolecules, 3/1999, pag. 81-88.
3. Meloun, M., Miličák, J.: Statistická analýza experimentálních dat. 2. vyd. Praha: Academia, 2004. ISBN 80-200-1254-0

Podpis studenta: .....

Datum: .....

Podpis vedoucího práce: .....

Datum: .....

## Údaje o DIPLOMOVÉ PRÁCI studenta

Os. číslo:	T13000127	Datum zadání:	10.03.2015
Příjmení a jméno:	Hanzlová Lenka, Bc.	Plánované datum odevzdání:	08.01.2016
Obor/komb.:	Netkané a nanovláknenné materiály (NNM)	Datum odevzdání:	dosud neodevzdáno
Zadané téma:	Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků		
Stav práce:	Rozpracovaná práce		

---

## Údaje o kvalifikační práci

### 1. Hlavní téma:

Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků

### 2. Hlavní téma v angličtině:

Mechanical properties and variability of spiders fibres

### 3. Název dle studenta:

Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků

### 4. Název dle studenta v angličtině:

Mechanical properties and variability of spiders fibres

### 5. Souběžný název:

### 6. Podnázev:

### 7. Anotace (krátký popis práce):

Diplomová práce navazuje na mou bakalářskou práci, která byla vypracována na téma "Variabilita vláken průměrů produkovaných velkými ampulovitými žlázami pavouků", kde byla zkoumána vlákna různých druhů pavouků z celého světa. Toto pokračování je zaměřeno pouze na vlákna pavouka Křížáka obecného.

První literární část je zaměřena na vznik vlákna u pavouka Křížáka obecného pomocí snovacích žláz, které ústí ve snovacích bradavkách na jeho zadečku. Dále jsou zde uvedeny úspěchy vědců např. získání hlavního proteinu pavoučího vlákna, nahlédnutí do chemického prostředí ve snovacích žlázách a využití končetin pavouka při spřádání.

Druhá část se zabývá chemickým složením, přeměnou a pH v procesu tvorby vlákna, jeho vlastnostmi, aplikacemi a využitím v přítomnosti i budoucnosti.

Ve třetí experimentální části je podrobně popsán sběr vláken, jejich uchování, měření pevnosti prodloužení na vláknenné trhačce Digital Electronic Fiber Tester a obrazová analýza na přístroji JENAPOL Carl Zeiss, JENA.

Čtvrtá část je zhodnocením výsledků měření, tabulkami a znázorněním grafy (histogramy, Sturgesovo pravidlo, korelace průměru vlákna na jeho pevnost).

### 8. Klíčová slova (odděluje čárkou):

Snovací žlázy, snovací bradavky, protein, oligomerace, spigot, fibroin, biokopolymery, aminokyseliny, karboanhydrázy, DNA, biomateriály

### 9. Anotace v angličtině (krátký popis práce):

This master thesis is extension of my previous bachelor thesis: "Mechanical properties and variability of spiders fibres" that focused on fibers of different species of spiders in general. This follow up focuses solely on fibers of *Araneus diadematus* (so called cross spider, European garden spider, diadem spider or crowned orb weaver).

First part focuses on creation of fibers at *A. diadematus* by silk glands that end up in spinnerets on spider's abdomen. Thesis also summarizes some of achievements of scientists such as discovering of main protein of spider's fibers, look at chemical environment inside silk glands or function of spider's legs when spinning.

Second part deals with chemical composition, conversion and pH in process of silk's creation, it's characteristics, ways of application and utilization now and in days to come.

Third experimental part describes in details collection of spider's fibers, it's preservation, measurement of it's strength-prolongation using by special device and visual analysis made by JENAPOL Carl Zeiss, JENA.

Fourth part contains evaluation results of measuring in tables and illustration in graphs (histograms, Sturges' rule).

### 10. Anglická klíčová slova (odděluje čárkou):

Silk glands, spinnerets, protein, oligomerization, spigot, fibroin, biokopolymers, aminoacid, carbonic anhydrase, DNA, biomaterials

### 11. Přílohy volně vložené:

jedno CD

### 12. Přílohy vázané v práci:

grafy, schémata, portréty, tabulky

## Údaje o DIPLOMOVÉ PRÁCI studenta

<b>Os. číslo:</b>	T13000127	<b>Datum zadání:</b>	10.03.2015
<b>Příjmení a jméno:</b>	Hanzlová Lenka, Bc.	<b>Plánované datum odevzdání:</b>	08.01.2016
<b>Obor/komb.:</b>	Netkané a nanovláknenné materiály (NNM)	<b>Datum odevzdání:</b>	dosud neodevzdáno
<b>Zadané téma:</b>	Mechanické vlastnosti a variabilita vláken pavouků		
<b>Stav práce:</b>	Rozpracovaná práce		

**13. Rozsah práce:** 51 s. (50 026 znaků), 4 s.

**14. Jazyk práce:** CZ

**15. Záznam průběhu obhajoby:**

**16. Zásady pro vypracování:**

1. Vypracujte literární rešerži z oblasti vláken produkovaných velkými ampulovitými žlázami pavouků. Popište vlastnosti pavoučích vláken, složení, "výroba" a možnosti použití. Zaměřte se na pavoučí hedvábí křížáka obecného.

2. Navrhněte a realizujte experiment pro zjištění mechanických a geometrických vlastností sledovaných pavoučích vláken.

3. Naměřená data statisticky zpracujte a výsledky interpretejte. Popište variabilitu vláken produkovaných velkými ampulovitými žlázami danou fylogenetickou rozmanitostí pavouků.

**17. Seznam doporučené literatury:**

1. Felix, R.: Biology of spiders. Oxford University Press, Oxford and New York 2011.

2. Vollrath, F.: Biology of spider silk. International Journal of Biological Macromolecules, 3/1999, pag.81-88.

3. Meloun, M., Militký, J.: Statistická analýza experimentálních dat. 2. vyd. Praha: Academia, 2004. ISBN 80-200-1254-0

**18. Osoby VŠKP:**

**Vedoucí:** Pechočiaková Miroslava, Ing. Ph.D.

### Elektronická forma kvalifikační práce

<b>Název souboru</b>	DP_Hanzlova.pdf
<b>Velikost souboru</b>	2713 KB
<b>Typ souboru</b>	PDF - textový soubor
<b>Zveřejnění práce</b>	ANO - zpřístupnit veřejnosti
<b>Omezení přístupu - časové</b>	Ihned po odevzdání práce (tj. od 08.01.2016)

### Posudky kvalifikační práce

<b>Posudek(y) oponenta</b>	Není k dispozici...
<b>Hodnocení vedoucího</b>	Není k dispozici...

<b>Soubor s průběhem obhajoby</b>	Žádný není vložen
-----------------------------------	-------------------

Potvrzuji správnost vložených údajů :

Datum: ..... Podpis: .....

### Prohlášení

Byl (a) jsem seznámen (a) s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom (a) povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval (a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

Datum

Podpis

### **Poděkování**

Mé poděkování patří zejména Ing. Miroslavě Pechočiakové, Ph.D. za ochotu, vstřícnost, cenné rady, profesionální přístup a pomoc při odborném vedení mé práce.

Děkuji Ing. Janě Salačové, Ph.D. a laborantkám v laboratořích TUL za pomoc při zkoumání a bádání na vlákenné trhačce Digital Electronic Fiber Tester a přístroji JENAPOL Carl Zeissl, JENA pro experimentální část mé diplomové práce.

Děkuji své rodině za trpělivost, podporu a pomoc při studiu.

### Abstrakt

Diplomová práce navazuje na mou bakalářskou práci, která byla vypracována na téma „Variabilita vláken průměrů produkovaných velkými ampulovitými žlázami pavouků“, kde byla zkoumána vlákna různých druhů pavouků z celého světa. Toto pokračování je zaměřeno pouze na vlákna pavouka Křížáka obecného.

První literární část je zaměřena na vznik vlákna u pavouka Křížáka obecného pomocí snovacích žláz, které ústí ve snovacích bradavkách na jeho zadečku. Dále jsou zde uvedeny úspěchy vědců např. získání hlavního proteinu pavoučího vlákna, nahlédnutí do chemického prostředí ve snovacích žlázách a využití končetin pavouka při spřádání.

Druhá část se zabývá chemickým složením, přeměnou a pH v procesu tvorby vlákna, jeho vlastnostmi, aplikacemi a využitím v přítomnosti i budoucnosti.

Ve třetí experimentální části je podrobně popsán sběr vláken, jejich uchování, měření pevnosti prodloužení na vlákně trhačce Digital Electronic Fiber Tester a obrazová analýza na přístroji JENAPOL Carl Zeiss, JENA.

Čtvrtá část je zhodnocením výsledků měření, tabulkami a znázorněním grafy (histogramy, Sturgesovo pravidlo, korelace průměru vlákna na jeho pevnost).

### Abstract

This master thesis is extension of my previous bachelor thesis: “Mechanical properties and variability of spiders fibres” that focused on fibers of different species of spiders in general. This follow up focuses solely on fibers of *Araneus diadematus* (so called cross spider, European garden spider, diadem spider or crowned orb weaver).

First part focuses on creation of fibers at *A. diadematus* by silk glands that end up in spinnerets on spider's *abdomen*. Thesis also summarizes some of achievements of scientists such as discovering of main protein of spider's fibers, look at chemical environment inside silk glands or function of spider's legs when spinning.

Second part deals with chemical composition, conversion and pH in process of silk's creation, it's characteristics, ways of application and utilization now and in days to come.

Third – experimental – part describes in details collection of spider's fibers, it's preservation, measurement of it's strength-prolongation using by special device and visual analysis made by JENAPOL Carl Zeiss, JENA.

Fourth part contains evaluation results of measuring in tables and illustration in graphs (histograms, Sturges' rule).

### **Klíčová slova**

Snovací žlázy, snovací bradavky, protein, oligomerace, spigot, fibroin, biokopolymery, aminokyseliny, karboanhydrázy, DNA, biomateriály.

### **Key words**

Silk glands, spinnerets, protein, oligomerization, spigot, fibroin, biokopolymers, amino acid, carbonic anhydrase, DNA, biomaterials.



## Seznam použitých symbolů a zkratk

Ca = kanboanhydráza

Lyáza = enzym katalyzující nehydrolytické štěpení vazeb

CT = C-terminální domény

DNA = deoxyribonukleová kyselina

NT = N-terminální domény

GABA = kyselina gama-aminomáselná

pH = potential of hydrogen – potenciál vodíku

ALD = technologie Atomic Layer deposition

$\bar{x}$  = průměr

S = směrodatná odchylka

$S^2$  = rozptyl

V = variační koeficient

IS = interval spolehlivosti

T = jemnost [tex]

$\rho$  = hustota [ $\text{kg/m}^3$ ]

$f_r$  = relativní pevnost [cN/tex]

$f_j$  = relativní četnost [%]

## Obsah

1	Úvod .....	10
2	Literární rešerše.....	11
2.1	Vznik pavoučího vlákna Křížáka obecného .....	11
2.2	Chemické složení pavoučích vláken .....	15
2.3	Vlastnosti pavoučího hedvábí .....	18
2.4	Aplikace pavoučích genů.....	19
2.4.1.	Využití pavoučích genů pomocí Bource morušového .....	19
2.4.2.	Pavoučí geny produkováné pomocí bakterií .....	19
2.4.3.	Pavoučí geny aplikované trpasličím kozám .....	19
2.5	Využití pavoučího hedvábí .....	23
3	Experiment.....	25
3.1	Sběr vláken pavouka Křížáka obecného.....	25
3.2	Měření pevnosti a prodloužení pavoučích vláken.....	26
3.3	Obrazová analýza .....	26
4	Výsledky měření a diskuze .....	29
4.1	Tabulka - přehled měření letních vláken .....	29
4.4	Tabulka pro konstrukci grafu - podzim .....	36
	Jako další byly sledovány závislosti mezi průměrem vláken a jejich pevností. ....	37
5	Závěr.....	44
	Seznam obrázků .....	46
	Seznam tabulek .....	47
	Použitá literatura .....	48
	Příloha.....	50

## 1 Úvod

Pavoučím vláknem jsou lidé fascinováni již dlouho. První doložené pokusy jeho využití byly provedeny již v 18. století, ale až nedávno vědci přišli na způsob jeho tvorby v těle pavouků. Materiál, z něhož vznikají pavoučí sítě, technology fascinuje již dlouho. Ale to, aby vznikaly pavoučí farmy, není možné z důvodu jejich kanibalismu a také proto, že v zajetí pavouci odmítají vlákna spřádat. Cílem vědců je tedy vyrábět vlákna synteticky. Stále se, ale nevede vytvořit totožný protein, který dokáže vyprodukovat jen pavouk.

V celém světě bylo zatím objeveno asi 40 462 druhů pavouků ve 109 čeledích. V Evropě 4113 druhů v 50 čeledích. V České republice 855 druhů ve 38 čeledích.

Diplomová práce je zaměřena na vlákna Křížáka obecného, na jeho vznik ve snovacích žlázách a jeho chemickém složení. Dále se práce zabývá zkoumáním vědců tvorbou vláken v těle pavouka, pH prostředí a jeho změnami ve žlázách, vlastnostmi pavoučího hedvábí, aplikacemi pavoučích genů pomocí Bource morušového a bakterií *Escherichia coli*. Také pokusy aplikovat pavoučí geny trpasličím kozám západoafrickým, jejichž mléko pak obsahuje pavoučí protein.

V práci jsou také popsány různé způsoby a pokusy použití a také zlepšování vlastností pavoučího vlákna dalšími úpravami. Například technologií ALD (Atomic Layer deposition) nebo přidávání iontů kovů nebo jeho kombinace s nanotrubičkami. Zajímavý je i plášť vyrobený z pavoučích vláken, medicínské, vojenské a kosmické využití.

Experimentální část se zabývá sběrem vláken Křížáka obecného, přípravou vzorků, měřením pevnosti a prodloužení vláken vlákenná trhačka Digital Electronic Fiber Tester. Dále obrazovou analýzou (přístroj Jenapol Carl Zeiss JENA) vláken, kde je teprve vidět kolik fibril takové vlákno může obsahovat.

Výsledky vzorků z letního a podzimního sběru vláken jsou v experimentální části zpracovány do tabulek, rozděleny do tříd podle Sturgesova pravidla a znázorněně histogramem.

Příloha obsahuje fotografie z obrazové analýzy vláken.

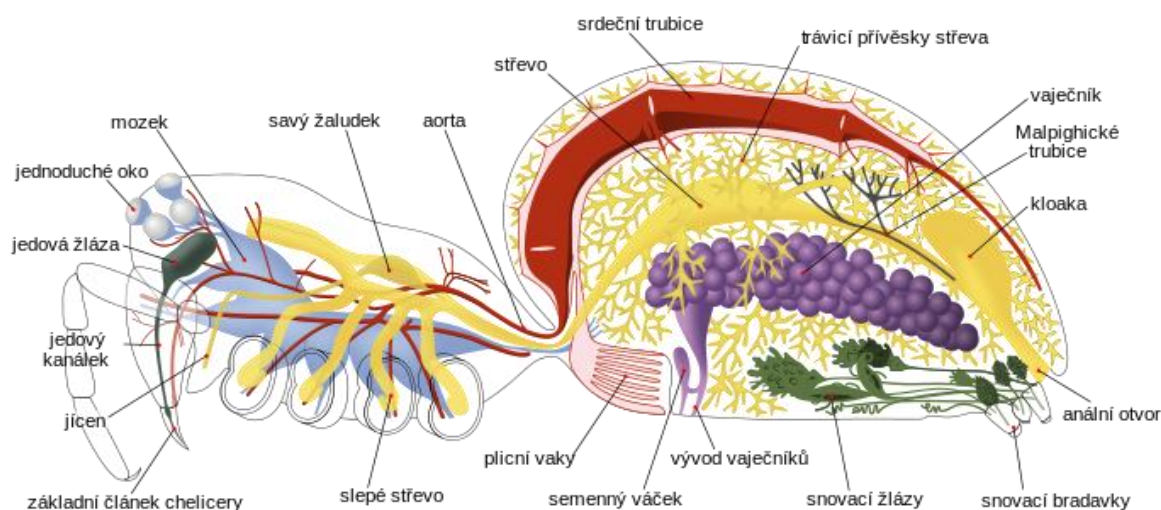
Tato diplomová práce navazuje na bakalářskou práci: „Variabilita vlastností hedvábí produkovaného velkými ampulovitými žlázami pavouků“, protože stále je něco nového objeveno a nejen vědci, ale hlavně příroda nás nikdy nepřestane překvapovat svou dokonalostí. Je třeba si uvědomit, že i my lidé jsme její součástí, jen organismem, který stvořila, ale který také může kdykoliv zničit.

## 2 Literární rešerše

### 2.1 Vznik pavoučího vlákna Křížáka obecného

Pavoučí vlákno vzniká v různých typech snovacích žláz, které ústí do posledních článků snovacích bradavek – spigotů. Pavouk disponuje několika typy snovacích žláz, které se ale nevyskytují u všech druhů pavouků.

Vlákno produkované žlázami je částečně amorfní a částečně krystalický polymer složený z aminokyselin. Pavouk dokáže ovládat zapojení jednotlivých žláz do tvorby vlákna dle momentálního účelu použití.



#### 2.1 Umístění snovacích žláz v těle pavouka – zelená barva

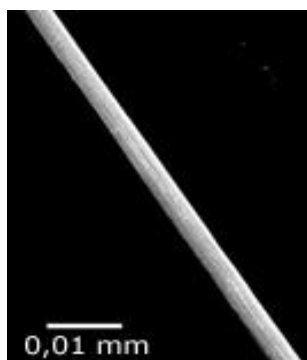
Pavoučí hedvábí je tvořeno ze zvláštních vláknitých bílkovin – fibroinů, které se u pavouků nazývají spidroiny.

Někteří pavouci za určitých podmínek hedvábí skutečně jenom vypouštějí. Jedná se například o vlákno používané k transportu. Když se chce pavouk přemístit vzduchem, sedne si na vyvýšené místo, vypouští vlákno, a když cítí, že ho unese, tak se pustí a letí.

Ale při tkaní sítí hedvábí pavouk zpracovává, což závisí nejen na chemickém složení, ale i na kooperaci zadečku a končetin. [cit.15]

Tým vědců z mnichovské techniky vedený Thomasem Scheibelem publikoval v Angewante Chemie o přechodu pavoučí bílkoviny z rozpustné fáze do pevného vlákna. Tedy odhalil způsob, jak pavouk pavučinu ze suroviny snová. Vědcům se podařilo získat pomocí genového inženýrství jeden z hlavních proteinů z pavoučího vlákna. Při jeho čištění zjistili, že se tento protein vyskytuje ve dvou frakcích. Jedna byla tvořena dimery, tedy dvojicemi bílkovinných molekul a druhá obsahovala oligomery. Oligomery složené z více molekul. A právě oligomerace nebo-li řetězení

většího počtu molekul vlastně tvoří základ vzniku vlákna. Ve své snovací žláze pavouk uchovává vysoce koncentrovaný roztok příslušného proteinu spolu s vysokou koncentrací chloridu sodného, který brání řetězení proteinu. Odstraněním iontů chloridu sodného (odsolením) ze žlázy je navozena polymerace a tedy tvorba vlákna. Důležitou roli hraje také kyselost prostředí. Ve snovací žláze je vysoké pH, tedy zásadité prostředí, ale v samotné bradavce je prostředí mírně kyselé. V alkalickém prostředí k oligomerizaci nedochází. Ale když pH klesne, začnou se tvořit oligomery<sup>1</sup>. V alkalickém prostředí jsou zbaveny protonů tyrosinové zbytky v proteinech a to dává celé molekule mírně záporný náboj. Se záporným nábojem je oslabena interakce mezi hydrofobními úseky proteinové molekuly, která je nutná pro oligomerizaci. [cit.5]



2.2 Vláknو vytvořené  
v mnichovské laboratoři



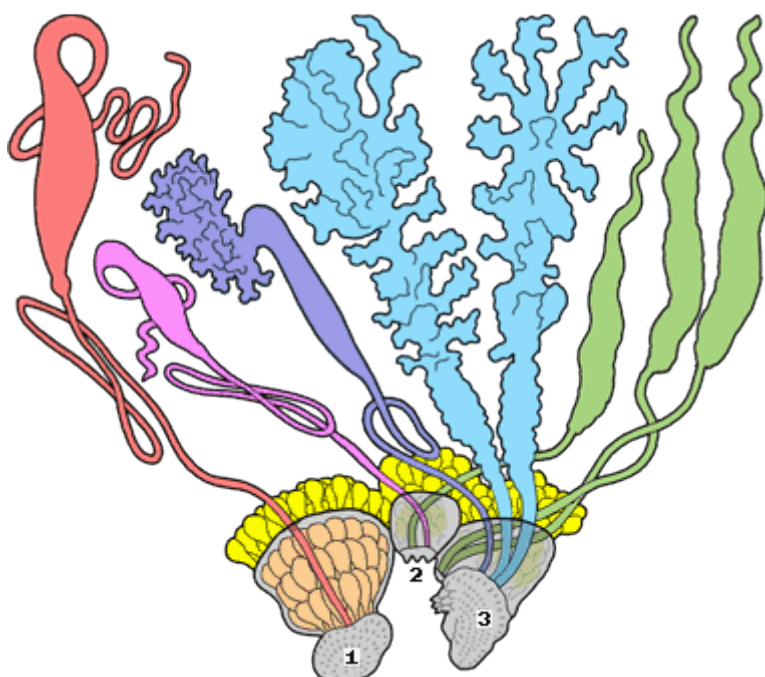
2.3 Thomas Scheibel



2.4 Křížák obecný

---

<sup>1</sup> Oligomer je nízkomolekulární nežádoucí složka v polymerech – zhoršuje mechanické vlastnosti



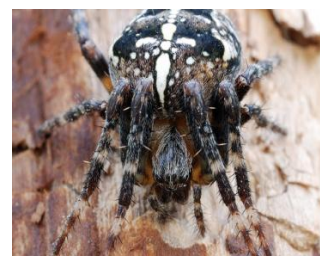
2.5 (1) přední bradavka, (2) střední bradavka, (3) zadní bradavka

Druh žlázy	Funkce
aciniformní	vlákna obalující kořist, síťky pro samčí spermie a jemná vlákna kokonů
piriformní	přichytné terčíky pavučinových vláken, jemné komponenty nosných a signálních vláken
větší ampulární	hlavní nosná vlákna kostry pavučiny, silná signální vlákna, jištění pavouka, chemická stopa
menší ampulární	pomocná spirála
flageliformní	osová vlákna lapací spirály
agregovaná <sup>1</sup>	lepivá hmota lapací spirály
cylindrická	silná vlákna stěn kokonů



2.6 Drápky na koncích končetin pavouka, pomocí kterých spřádá vlákna (foto katedra biologie Přírodovědné fakulty UJEP Ústí nad Labem)

Pavouci mají na konci svých končetin dva nebo tři drápky, které vypadají jako hřebínky. Pomocí těchto hřebínků vlákno vyčesávají a protahují. Jeden typ hedvábí má vzhled vaty, kterou pavouci v podobě chomáček nanášejí hřebínkem tzv. kalamistrum, na konstrukci z vláken, aby zajistili jejich větší adhezivitu – síť je pak lepivější. Končetiny jsou ale také důležité v procesu tvrdnutí hedvábí, kdy se při vyčesávání krystalky orientují do určité polohy a vlákno, tak nabývá mechanické vlastnosti (podobně jako při dloužení syntetických vláken). [cit.10]



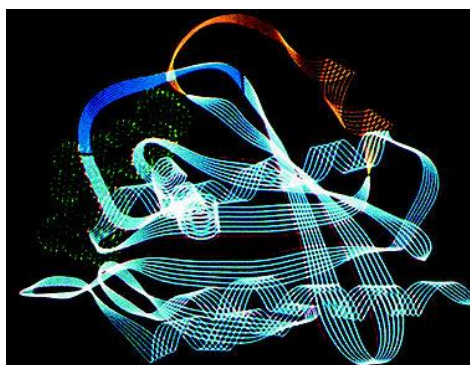
2.7 Křížák obecný



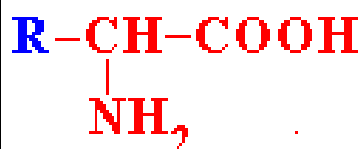
## 2.2 Chemické složení pavoučích vláken

Pavoučí vlákno je tvořeno proteiny složené z aminokyselin, v kterých se střídají jednotlivé stavební kameny. Dále glykoproteiny (komplexní molekuly složené z cukrů a proteinů) a lipidy (ve velmi malém množství).

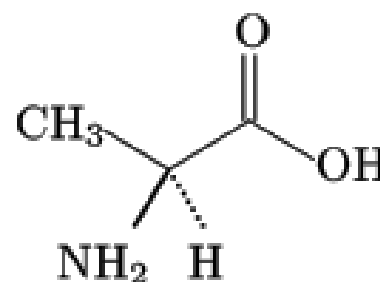
Jeho hlavní složkou jsou proteiny a to spidroin. Proteiny patří mezi biokopolymery a jsou to vysokomolekulární látky složené z aminokyselin. Aminokyseliny jsou vzájemně vázány aminoskupinami –  $\text{NH}_2$  a karboxylovými skupinami –  $\text{COOH}$ , amidovou vazbou –  $\text{NH} - \text{CO} -$ , která se v přírodě nazývá peptidovou vazbou. Výsledné uspořádání proteinu a jeho vlastnosti jsou závislé na pořadí jednotlivých aminokyselin v řetězci. Krystalická struktura dodává vláknu pevnost a amorfní pružnost. Záleží na podílu jednotlivých struktur a vůli pavouka k jakému účelu vlákno vytváří. [cit.15]



2.8 Struktura proteinu 3D



2.9 Obecný vzorec aminokyselin



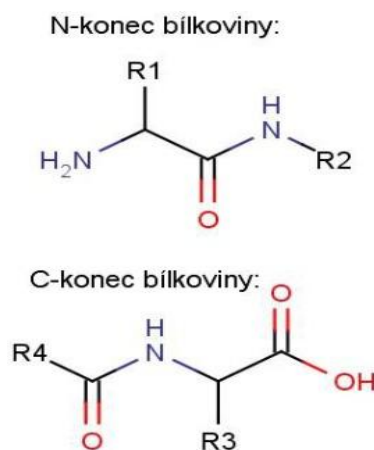
2.10 Strukturní vzorec alaninu

Struktura 3D proteinu je dána jeho terciární strukturou. Výsledné prostorové uspořádání proteinu je závislé na pořadí jednotlivých aminokyselin v řetězci. Různé aminokyseliny mají různé biochemické vlastnosti a tak jejich kombinace a kombinace jejich vlastností udává jak prostorové záhyby aminokyselinového řetězce, z nichž je „stvořena“ konečná podoba proteinu, tak i konečné vlastnosti proteinů. (Alanin – jedna z aminokyselin proteinu. [cit.2])

Vědci ze Švédska zkoumající také tvorbu vláken v těle pavouků zveřejnili výsledky výzkumu v časopise PLOS Biology. Pomocí selektivních mikroeletrod zjistili, že gradient pH ve žlázách je mnohem širší než bylo známo. Ve žlázách je také



generován a udržován. Postupná změna pH prostředí ve žlázách od neutrálního 7,6 na začátku až po kyselé 5,7 ve středu zvlákňovacího kanálu se spouští pomocí enzymu karboanhydrázy (CA)<sup>2</sup>. Tento enzym vytváří kyselé prostředí převedením oxidu uhličitého a vody na bikarbonát a vodíkové ionty. Přejít z tohoto rozpustného stavu je pro tvorbu vlákna velmi důležitý, protože jinak by se snovací žlázy mohly ucpat. Pavouci dokážou tento proces obrovsky urychlit, kdy soukají hotové vlákno během zlomků vteřiny rychlostí větší než 1 m/s. Základem bílkovinného vlákna jsou spidroiny, které se opakují ve velmi vysoké frekvenci, ale jsou omezeny tzv. N- a C-terminálními doménami (NT a CT), které se už pravidelně neopakují. Během procesu přeměny vlákna NT dimery podstatně stabilizují a poté „zamykají“ spidroiny do multimerů, zatímco CT struktury na druhou stranu spidroiny destabilizují a rozvíjí je do amyloidních fibril, které mohou vyvolat tvorbu vláken. Aktivita karboanhydrázy se objevuje ve stejné oblasti žlázy, kde se vyskytují strukturální změny – opačné účinky na stabilitu NT a CT, a kde je vysoký tlak oxidu uhličitého. Spidroinové „terminální domény“ jsou vysoce konzervované (specifické), a to jak mezi druhy, tak dokonce mezi různými druhy vláken, takže hrají důležitou roli ve vzniku pavoučího hedvábí, spíše než mechanické vlastnosti vláken. NT a CT jsou jedinečné spidroiny a v přírodě nejsou známy žádné jejich homology. Mechanismus zámku (provádí NT) a spouště (provádí CT) je jedinečný pro tvorbu pavoučího hedvábí, na rozdíl od dříve identifikovaného smykového indukovaného polymeračního mechanismu, který se vztahuje například i na tvorbu hedvábí bource morušového. [cit.7]

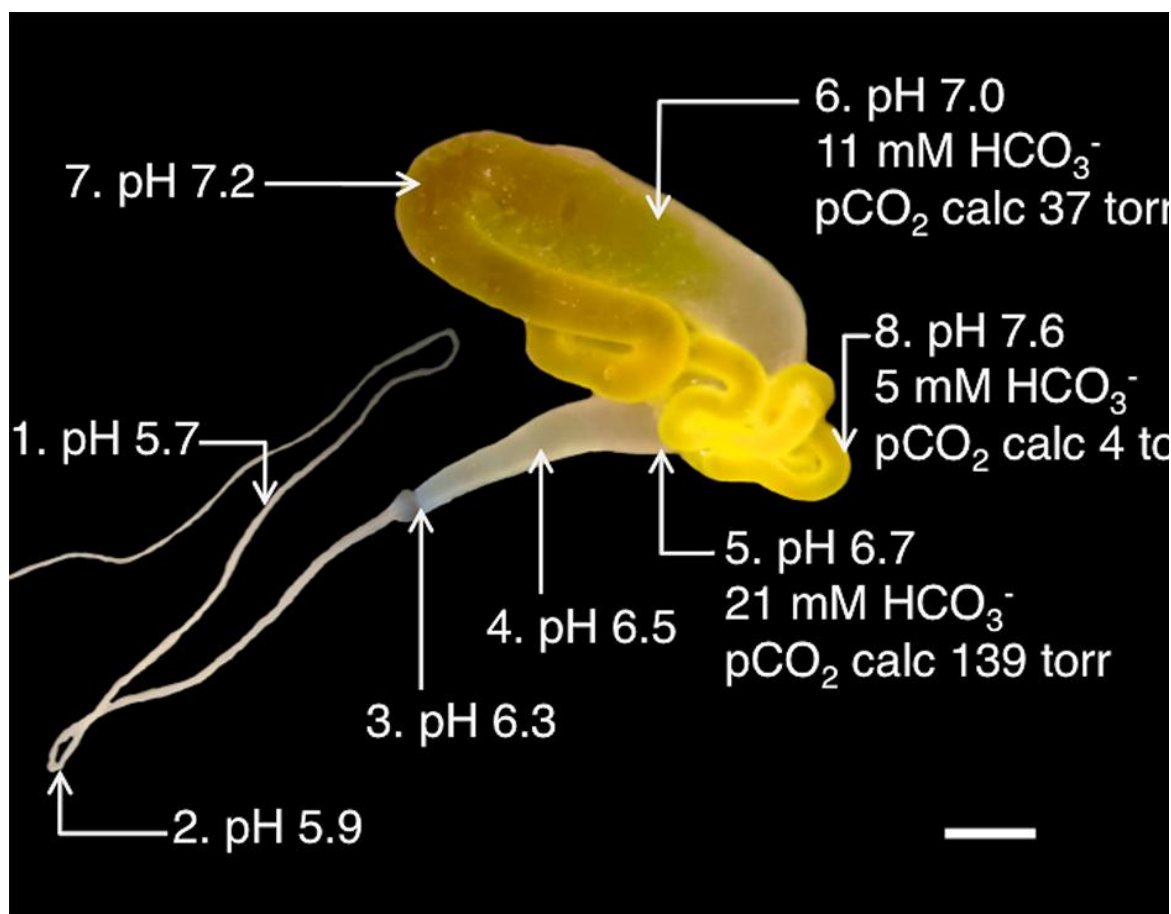


### 2.11 Struktura C-konce a N-konce bílkovinných molekul

---

<sup>2</sup> Enzymy ze skupiny lyáz katalyzující vratnou přeměnu  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  na kys. uhličitou  $\text{H}_2\text{CO}_3$

Podrobné porozumění přirozeného procesu předení bude mít zásadní vliv na vývoj procesu zvlákňování, který je schopen vytvářet skutečně biomimetická pavoučí hedvábná vlákna a může poskytnout nové pohledy na přírodní způsob, jak omezovat tvorbu amyloidních fibril na určitém místě. Tento mechanismus tedy umožňuje časovou a prostorovou kontrolu nad tvorbou vlákna a může být rovněž využit ve snaze vyrobit umělé vlákno se stejnými nebo podobnými vlastnostmi. [cit.8,9]



2.12 Fotografie z hlavní části žlázy, ve které se měří hodnoty pH a bikarbonátu  $\text{HCO}_3$ , a jsou uvedeny vypočítané hodnoty  $\text{pCO}_2$  v různých lokalitách.

### 2.3 Vlastnosti pavoučího hedvábí

Pavoučí vlákno je kombinací pevnosti a pružnosti velmi houževnaté jako žádné jiné přírodní nebo syntetické vlákno. Obdivuhodné je, že tuto kombinaci vlastností ovlivňuje jen a jen rozhodnutí pavouka.

Průměr jednoho vláčenka se pohybuje od 0,02 – 0,15  $\mu\text{m}$ , ale někdy ani pod mikroskopem nedokážeme přesně určit, kolik vláček jedno celé vlákno obsahuje. Bylo to dokázáno při zkoušení pevnosti na vlákenné trhačce, kdy počet vláken byl viditelný až po přetrhu při obrazové analýze.

Jak již bylo mnohokrát řečeno vlákno má větší pevnost v tahu než ocel. Svou délkou dokáže prodloužit až o 20 % - 40 %, aniž by se přetrhlo. Pavučina je 3x pevnější než kevlar<sup>3</sup>. Muselo by být desítky kilometrů dlouhé, aby se přetrhlo vlastní vahou, a přes svou mizivou tloušťku dokáže zastavit například letící včelu. Vlákná jsou vysoce hydrofobní (nesmáčivá), mají různé odstíny barev, které umožňují pohlcovat sluneční záření. Dále mají repelentní účinky, na kokonu s vajíčky je samička načechrá, a tak je chrání před kladením vajíček vosičkami. Hedvábí má tvarovou paměť a je recyklovatelné. Pavouk použítá a již nepotřebná vlákna pozře a tím si doplní proteiny důležité pro novou produkci vláken.

Vlákná jsou navíc biokompatibilní, biodegradabilní a hypoalergenní což se nabízí jako ideální při využití např. v biomedicínských aplikacích. [cit.4]

---

<sup>3</sup> Kevlar  $[-\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}-]_n$  má tažnou pevnost 20 – 21 cN/dtex, tažnost 2,8 – 4 %, relativní hustotu 1,44 g/cm<sup>3</sup>, je nevhodný pro vlhké prostředí a ke stlačování, velmi tuhý a citlivý na UV záření

## 2.4 Aplikace pavoučích genů

### 2.4.1. Využití pavoučích genů pomocí Bource morušového

Výzkumníkům z univerzity Šinšu v Naganu se podařilo vstříknout pavoučí geny do housenky bource morušového, z jejichž vláken se získává hedvábí, a získat tak vlákno, které je pevnější, jemnější a odolnější než běžné hedvábí. Tým vedený Masao Nakagakim, profesorem genetiky hmyzu, objevem masové produkce pavoučího hedvábí porazil své konkurenty z celého světa. [cit.4]

### 2.4.2. Pavoučí geny produkované pomocí bakterií

V roce 1994 skupina amerických vědců z Cornell's Center for Advanced Technology zjistila, že vlákno pavučiny obsahuje také keratin, v kterém jsou zbytky aminokyseliny alaninu spojeny do delších úseků. Tyto úseky jsou prostorově složeny velmi uspořádanou strukturou rovnoběžných řetězců ve tvaru skládaného listu a dodávají vláknu pevnost. Ostatní úseky s málo orientovanými řetězci vytvářejí kolem uspořádaných krystalických struktur struktury amorfni, která zajišťuje vláknu pružnost a ohebnost.

Na univerzitě v New Hampshire při zkoumání vláken křížáků *Nephila clavipes* zjistili, že sušina 34 kusů sítí vážila dohromady 23,6 mg. V průměru tedy jedna síť váží 694 mg. Z této celkové hmotnosti bylo 51% sítí rozpustných a 49 % nerozpustných tvořených fibroinem. Rozpustná složka ve vodě měla pH 4,9 a obsahovala 1,8% draslíku a 0,5 % sodíku, anorganické fosfáty a 21% kys.gama-aminomáselné. Toto zjištění by mohlo vést k umělé výrobě pavoučích vláken. Protože roztok, z kterého pavouk spřádá vlákna na vzduchu tuhne a stává se ve vodě nerozpustným. Synteticky vyráběné polymery k tomu, aby se staly nerozpustnými potřebují vysokou teplotu nebo přítomnost silných kyselin. Je tedy důležité identifikovat tu část DNA, která kóduje posloupnost aminokyselin daného typu keratinu, který má právě tyto vlastnosti. Tímto problémem se zabývaly dvě laboratoře v USA. Podařilo se jim získat mírně modifikovanou DNA jednoho druhu pavouka a vpravit ji do bakterie *Escherichia coli*. Bakterie začaly produkovat bílkovinné fragmenty, které jsou totožné s odpovídajícími úseky keratinu pavoučího vlákna. [cit.6,7]

### 2.4.3. Pavoučí geny aplikované trpasličím kozám

V kanadské laboratoři firmy Nexia Biotechnologies ve Vaudreuil Dorion (Québec) a Materials Science Team U.S. Army geny pro tvorbu pavoučích vláken izolovaly z druhu *Araneus diadematus* (křížák) a *Nephila clavipes* a transgenním zvířátkem, kterému je předali a které bude produkovat pavoučí hedvábí se stala koza trpasličí západoafrická, která byla nejvhodnější. Izolované pavoučí geny se nejdříve získaly z pavoučího prášku. Pavouci se zmrazili v tekutém dusíku a následně rozmrazili.

Z rozemletého prášku se vyextrahovala pavoukova DNA. „Správné“ geny pro tvorbu nezemělitných pavoučích vláken vědci přenesly do vajíček koz, které pak byly uměle oplodněny. Narozená kůzlata (samičky) v mléce budou produkovat látku totožnou s pavoučím hedvábím. Možné je to proto, že vyextrahovaná pavoučí DNA byla modifikována přidáním genetického spínače aktivujícího gen pouze u samice v mléčné žláze. Vyprodukované mléko se pak odstředí, aby se zbavilo tuku, přidá se sůl, aby se vysrážely pavoučí proteiny, které klesnou na dno. Směs se opět odstředí, mléko se scedí a k sedimentu se přidá voda. Sediment se ve vodě rozpustí, vznikne zlatavá emulze, onen pavučinový koncentrát, který je totožný s tím co má pavouk ve snovací žláze. Tento koncentrát se vytlačuje pod tryskou, voda se odpařuje a vzniká vlákno. Za 1 hodinu vznikne asi 100m vlákna (1g vystačí asi na 9 km vlákna o síle lidského vlasu).[cit.6,7]

Potom se průhledné a lesklé vlákno navíjí na cívku a zároveň se napíná (dloužení) na krajní mez pevnosti (tak to dělá i pavouk při snování sítě). Tím se vlákno nejen prodlužuje, ale současně se zvyšuje i jeho pevnost. Nejobtížnější přitom je vyrobit vlákno tak, aby bylo po celé délce stejnoměrně silné. Vzniklé vlákno bylo nazvané BioSteel (bioocel). Jádro vlákna je z domén bohatých na alanin (zajišťuje pevnost) a domén bohatých na glycin (zajišťuje pružnost). Protože je však tvořeno jen jediným druhem bílkoviny, pevnost pavučiny zatím nemá. Mechanické vlastnosti pavučinových vláken totiž určuje především jejich struktura a chemické složení. Nicméně má asi třikrát vyšší odolnost než stejně tenké vlákno z kevlaru, užívané při výrobě neprůstřelných vest.

Vlákno od pavouka *Nephila madagascariensis* vyzkoušel již koncem 19. století duchovní otec Paul Camboué, francouzský jezuitský kněz, který vlákno namotával na cívky. Podařilo se mu vyrobit i několik oděvů. Jeho práci mu ale komplikoval fakt, že pavouci netvořili dostatečně pevné vlákno. Využitím pavoučích vláken se tehdy snažil najít konkurenci drahému čínskému hedvábí.

Spíše nebývalé umělecké dílo „utkalo“ více jak milion těchto pavoučků během osmi let podle nápadu amerických textilních umělců a designerů do podoby vzácného zlatého pláště, který celý spatřil světlo světa v roce 2009. [cit.17]



2.13 Nephila clavipes



2.14 Plášť, vyrobený pavoučích vláken

Namotávání pavoučích nití na cívky je velmi pracné - každý pavouk je sevřen na jednom místě, kde vyrábí nit. Designéři zdůraznili, že všechny pavouky po získání potřebného "materiálu" vypustili bez jakéhokoliv zranění. Na oplátku jim zůstaly malé jizvy po kousancích, které jim pavouci uštědřili. Projekt zahrnoval 80 lidí, kteří denně po osm let každé ráno vycházeli sbírat pavoučí vlákna do laboratoře, s příhodným názvem Pavučina. Uvnitř bylo několik vynálezů, které pavoukům neubližovaly, ale umožňovaly získávat přímo od "výrobce" druh hedvábného vlákna. Na jednu nit bylo potřeba 96 vláken, na 28 gramů příze potom 23 000 pavouků. Přitom tento druh pavouka, který se hojně vyskytuje právě na tomto africkém ostrově, je schopný zlaté vlákno produkovat jen v době dešťů. Práce tedy mohly probíhat jen od října do června. Design pláště podle autorů vzdává úctu právě pavoukům a mýtům, kterými jsou opředení. [cit.11,12]

Tým amerických vědců vedený J. M. Goslinem zkoumal pevnost a pružnost radiálního vlákna sítě křížáka *Araneus sericatus*. Na počátku mělo vlákno pevnost kolem 1010 Pa, která klesala ve finální oblasti přibližně na  $4 \times 10^9$  Pa. Největší zatížení dosažené před prasknutím činilo kolem  $1,4 \times 10^9$  Pa a vlákno se předtím protáhlo o 30%. Tyto vlastnosti zařadily pavoučí vlákna na první místo mezi biologickými materiály. Na hmotnostní jednotku jsou pevnější než ocel a jsou srovnatelná se superpevným polymerovým materiálem kevlar. Do výzkumu pavoučích vláken dnes investují výzkumné společnosti armády. Například americká vojenská organizace DARPA plánuje využití uměle vyráběných pavučin do neprůstřelných vest a na ochranné pomůcky. [cit.6]

Profesor Shigeyoshi Osaki z japonské Nara Medical University hraje na housle, jejichž struny vyrobil z pavoučího hedvábí. Struny prý v těch správných rukou mají krásný zvuk. Osaki si v pavoučích vlákny hraje už 35 let. Dosud na jejich bázi navrhl např. neprůstřelnou vestu nebo nitě určené pro chirurgické šití. Také spletl z pavoučích vláken lano, které uneslo závaží o hmotnosti až 600 kg. Housle údajně vytvořil proto, aby možnosti technologie přiblížil nejen nadšencům, ale i běžným lidem. Houslové



struny (které prý dávají zvuku „měkké a hluboké zabarvení“) byly z pavoučích vláken vytvořeny tak, aby mezi nimi nebyly mezery. Osaku toho měl docílit tak, že při tkaní změnil tvar vláken: namísto kruhového průměru z nich udělal polygonální, což umožnilo natěsnat je blíže k sobě a zvýšit tak pevnost materiálu. [cit.14]

Výhodou pavoučích vláken není jen jejich pevnost a pružnost, ale i trvanlivost. Vydrží být funkční i za vysokých teplot, nepoškodí je ani třeba ultrafialové záření. Existuje řada způsobů, jak vlastnosti pavoučího hedvábí dále upravovat, lze do něj třeba přidávat ionty kovů nebo ho kombinovat s uhlíkovými nanotrubičkami. [cit.9]

Seung-Mo Lee z Institutu Maxe Plancka v německém Halle spolu s dalšími kolegy vyrobil materiál, který je třikrát pevnější než klasická pavučina. Vědci toho docílili přimícháním malého množství kovů, konkrétně zinku, titanu a hliníku, které vylepšilo vlastnosti pavučiny. Využili k tomu technologii nanášení vrstvy atomů, takzvanou ALD neboli atomic layer deposition. Atomy použitých kovů se tak dostaly nejen okolo vláken pavučiny, ale i dovnitř, kde přímo reagovaly se stavebními proteiny. Inspirací jim bylo tělo členovců. Podobné struktury najdeme například v kusadlech mravenců nebo sarančat. Badatelé zamýšlejí stejným způsobem obohatit pavoučí vlákna dalšími materiály, včetně umělých polymerů jako je například teflon. Touto technikou by vzniklo superpevné vlákno na výrobu textilu a zdravotnického materiálu. Je známo, že i obyčejné pavoučí vlákno, které je považováno za nejsilnější vlákno v přírodě, je silnější než ocel o stejné šířce. Pokusy využít nebývalé pevnosti vláken najdeme i v textilním průmyslu a ve vesmírném programu. [cit.8]

Vědci z Iowa State University objevili látku, která vede teplo lépe než měď a překvapivě to není kov, nýbrž organická sloučenina. Jedná se o pavučinu, kterou vyměšují pavouci druhu *Nephila clavipes* (česky nefila kyjonohá), nazývanou také „pavoučí hedvábí“. Již dříve se objevily spekulace, že by pavoučí hedvábí mohlo být dobrým tepelným vodičem, nicméně až profesor Xinwei Wang tuto hypotézu experimentálně potvrdil. V rámci výzkumu sponzorovaném mimo jiné výzkumným ústavem americké armády (U.S. Army Research Office) tým profesora Wanga naměřil u pavoučího hedvábí tepelnou konduktivitu 416 W/mK, zatímco měď má 401 W/mK. Vlákná spletená z bílkovin jsou pružná, a pokud se napnou o 20 %, stejným poměrem vzroste i jejich tepelná vodivost (navzdory tomu, že u většiny známých materiálů vodivost při napínání klesá). Právě pružnost by mohla být vlastností, která pavoučí hedvábí předurčí k použití v ohebné elektronice budoucnosti (už existuje několik prototypů ohebných displejů, takže nemusí nutně být řeč o dekády vzdálené technologii). A hypoteticky by se materiál mohl uplatnit například v základnách konvenčních chladičů. [cit.9]

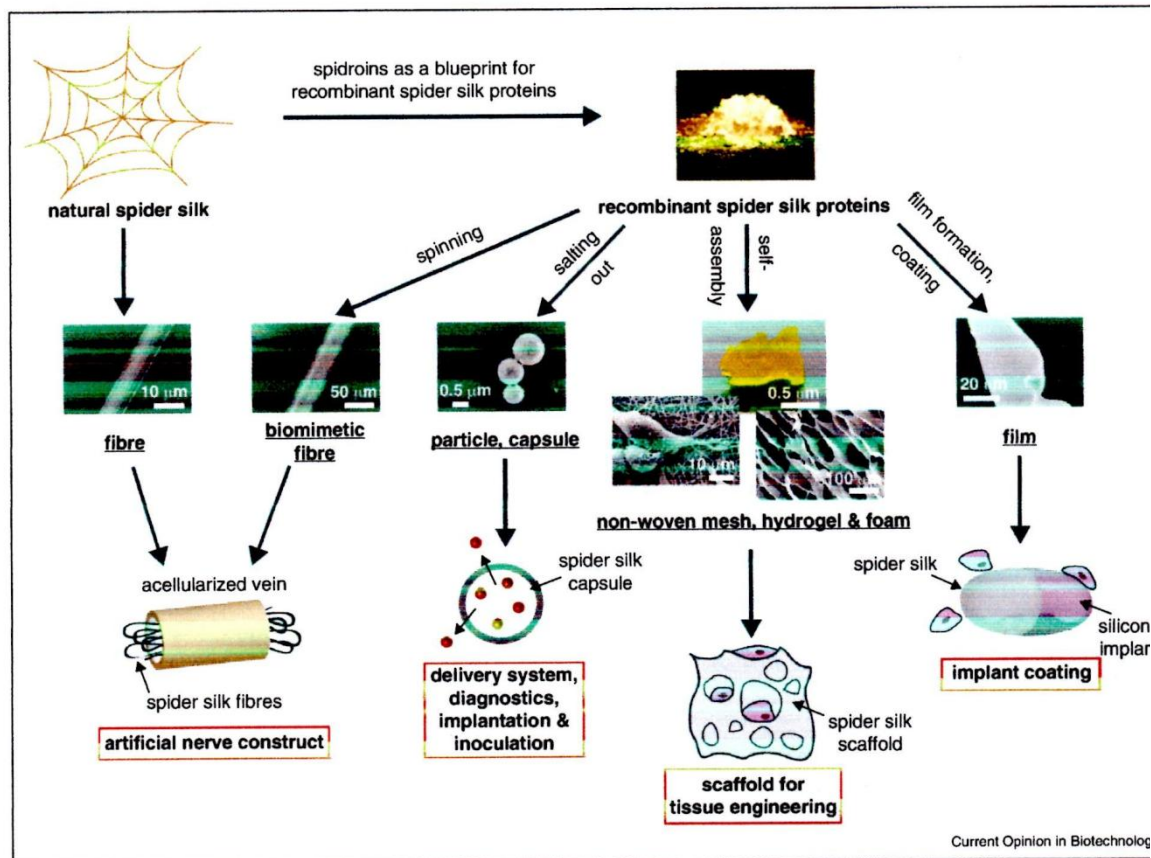
## 2.5 Využití pavoučího hedvábí

Medicínské využití:

- pavučina nevyvolává v těle imunitní reakce
- v současné době se hedvábí používá jako umělá podpora regenerace nervů, míchá se s rozpuštěným štěpem acelulární žíly, vznikne tak rozpuštěná tkáň bazální membrány bohatá na proteiny
- přírodní hedvábná pavoučí vlákna byla testována pro nahrazení šicích materiálů v mikrochirurgii a neurologii (ukázalo se, že tato vlákna jsou mnohem lepší než vlákna nylonová, přesto hlavní nevýhodou je nehomogenita a rozdíly ve vlastnostech, které jsou určené potřebami pavouků a přírodními podmínkami, další nevýhodou je nízká dostupnost tohoto materiálu)
- nosiče léků = hedvábné částice pavoučích vláken mohou být použity pro výrobu mikrokapslí pro řízené podávání léků v těle (např. přímo ke zhoubným nádorům) mikrokapsle jsou pomalu biologicky rozložitelné a mají polorozpustnou membránu, aby léčebné účinky mohly působit až na místě určení, kapsle chráněny (beta-galaktosidáza) proti proteolýze (rozkladu bílkovin na peptidy a aminokyseliny)
- povrchy silikonových implantátů, které jsou odolné proti hydrolytické a enzymatické degradaci a tím snížení výskytu kapsulární fibrózy což je reakce organismu na přítomnost cizího tělesa (jizevnatá kapsa kolem implantátu, jejíž obal je tvořen krevními cévami a fibroplasty, které produkují vazivová kolagenová vlákna), protože hedvábný povlak implantátů inhibuje adhezí, proliferaci fibroblastů a kolagenu (tato aplikace byla testována na potkanech, u kterých bylo pozorováno významné snížení tloušťky kapsle, pooperativního zánětu v porovnání s implantáty bez této povrchové úpravy)
- tenké fólie, membrány, hydrogely, pudry, netkané konstrukce pro různé aplikace = výhodou recombinantních proteinů pavoučího hedvábí jsou homogenita a vysoká kvalita výchozího materiálu, regulovatelná zpracovatelnost do různých morfologií, důležité je, že pavoučí hedvábné proteiny obsahují funkční peptidové sekvence, které zajišťují interakce mezi buňkami a povrchem materiálu, recombinantní proteiny mohou být modifikovány s buněčnými adhezivními peptidy za účelem zlepšení vazby buňky, byly také úspěšně použity jako matrice biomateriálů pro zvýšení diferenciace lidské kostní dřevě
- funkcionalizační pavoučí hedvábné proteiny nebo hybridy s antimikrobiálními peptidy mohou umožnit přístup k dosažení multifunkčních biomateriálů k potlačení infekcí v kombinaci s podporou růstu buněk
- výroba „umělého lešení“ pro růst jednotlivých kožních buněk = umělá kůže [cit.8]



Figure 4



Possible applications of spider silk materials in biomedicine. Recombinant spider silk proteins can be processed into morphologies other than fibre broadening the spectrum of possible applications.

## 2.15 Použití pavoučího hedvábí v biomedicině

Vojenské využití:

- neprůstřelné vesty
- zaměřovací kříž nebo různé stupnice v dalekohledu na pušce (již v 80. letech 19. století Nan Songer využíval vlákna pavouka černá vdova do optiky zbraní za 2.světové války
- s využitím počítají představitelé armád – ať už jako padáková lana, ochranné vesty či lana zachytávající letadla po přistání na letadlových lodích. V civilním sektoru je využití rovněž velice široké. Od architektury až po medicínu, kde by mohlo vlákno fungovat jako ultratenké nitě pro šití při operacích oka či mozku. Pro medicínské využití svědčí i to, že lidské tělo jej dobře snáší a po čase je vlákno zcela vstřebáno [ct.9]

### 3 Experiment

#### 3.1 Sběr vláken pavouka Křížáka obecného

Pro sběr vláken Křížáka obecného se připravily (z bílého papíru do PC tiskárny) kartičky o velikosti 76 mm x 28 mm, které přesně zapadnou do drážek ve speciální krabičce pro uchovávání vzorků od firmy Intraco Micro. Do kartiček byl vyseknut otvor o velikosti 1 x 1 cm. Na dvě protilehlé strany tohoto čtverečku byly nalepeny malé obdélníčky (5 x 7 mm) oboustranné lepicí pásky.



3.1 Kartičky s vlákny



3.2 Uložené vzorky



3.3 Radiální vlákna a spirálová vlákna

Ochranná část lepicí pásky byla odstraněna těsně před vložení kartičky pod vlákno. Vlákno bylo poté palci přitisknuto k lepicí pásce – výhodou bylo, že vlákno vždy zůstalo přilepené na pásce. Tento způsob sběru byl rychlejší a kvalitnější než při sběru vláken pro bakalářskou práci, kde jsem k uchycení vláken používala vteřinové lepidlo. Toto lepidlo, pokud nebylo úplně zaschlé, vlákno neudrželo, znehodnotilo nebo zničilo. Kartičky s vláknem byly ukládány již do zmíněné speciální krabičky.

Vlákna byla sbírána ve dvou obdobích – letním a podzimním.

Letních vláken bylo nasbíráno 83. Byl to docela problém nalézt kvalitní a dost viditelná vlákna, protože letošní léto bylo velmi suché a teplotně nadprůměrné. Pavouků bylo málo a nebyli příliš velcí. Byla sbírána radiální vlákna ze sítí, ale i vlákna, na kterých se pavouci spouštějí nebo přemísťují z místa na místo (všechna tato vlákna jsou nelepivá). Proto se také ve statistice vyskytují takové rozdíly v průměrech jednotlivých vláken. Spouštěcí a přemísťovací vlákna obsahují mnohem více fibril (jednotlivých vláken) – co bylo při vyhodnocování dat zjištěno.

Tímto způsobem byla také nasbírána vlákna podzimní, kterých je 41. K přípravě pro experimentální část diplomové práce byly potřeba: papírové kartičky, oboustranná lepicí páska, krabičky Intraco Micro pro uchovávání vzorků, laboratorní sklíčka, glycerin, nůžky, sametové destičky.

### 3.2 Měření pevnosti a prodloužení pavoučích vláken

Dalším krokem bylo měření pevnosti na vlákenné trhačce Digital Electronic Fiber Tester. Tento starší typ se ukázal jako nejvhodnější. Při přípravě pro trhání a měření pevnosti na přístroji Vibrodyn 400 se vzorek zničil při upínání do automatických čelistí ještě před samotnou zkouškou. Naopak do trhačky Digital Electronic Fiber Tester byla kartička sestřižena do velikosti čelistí. Upínala se ručně a byl sledován okamžik přetrhu i vizuálně, protože přetrh některých vláken přístroj z důvodu citlivosti nezaznamenal. Upínací délka činila 10 mm a rychlost 10 mm/min.



3.4 Detail čelistí



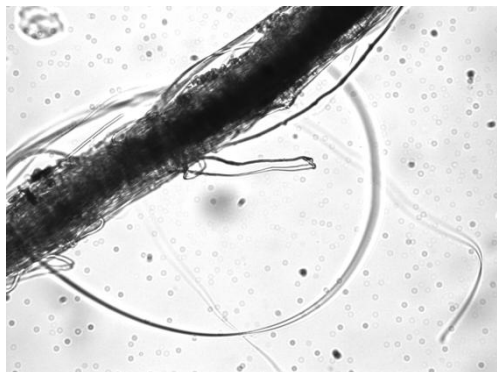
3.5 Vlákenná trhačka Digital Electronic Fiber Tester, typ: FM – 27 Made in Hungary

### 3.3 Obrazová analýza

Zbytky natrhaných vláken, přilepených na torzo papírové kartičky byly ukládány na sametovou černou destičku. Jednotlivá přetržená vlákna byla položena na laboratorní sklíčko a zakápnuta kapkou glycerínu. Krycím sklíčkem nebylo možné takto připravený vzorek přikrýt, protože výšky papíru s lepicí páskou nedovolila dokonalé přilnutí sklíčka a vlákno nebylo pod mikroskopem viditelné. Proto muselo být vždy odhadnuto množství glycerínu na sklíčko, tak aby vlákénko příliš neplavalo. Následně bylo laboratorní sklíčko vloženo pod mikroskop, zaostřeno a přepnuto na obraz do PC. Po zaostření byl obraz vlákna vyfocen a naměřeno 5 měření šířky vlákna pro výpočet jeho průměru. 5 měření, protože na kartičce opravdu zbylo jen torzo vlákna.

Vzhledem k malé tažnosti byl zanedbán vliv zdeformování vlákna během zkoušky pevnosti/tažnosti.

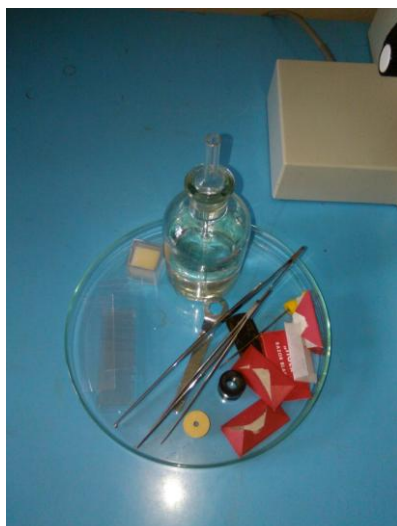
Z obrázku č. 3.6 a č. 3.7 je patrné, že vlákno je složeno z většího množství fibril. Důvodem je právě účel použití, jedná se o vlákna radiální, tedy nosná pro síť. Pavouk je schopen více fibril obalit roztokem, takže na první pohled vypadá jako jedno vlákno.



3.6 Vláknó složené z fibril



3.7 Vláknó složené z fibril



3.8 Pomůcky pro tvorbu preparátu na obrazovou analýzu



3.9 Jenapol Carl Zeiss, JENA





3.10 Detail přístroje Jenapol Carl Zeiss, Jena



3.11 Jena s pomůckami

## 4 Výsledky měření a diskuze

V tabulce č. 4.1 jsou uvedeny naměřené parametry pavoučích vláken: pevnost, prodloužení, tažnost, průměr vlákna, jemnost, relativní pevnost.

4.1 Tabulka - přehled měření letních vláken

Číslo vlákna	Pevnost [cN]	Prodloužení [mm]	Tažnost [%]	Průměr vlákna [μm]	Jemnost [tex]	Relativní pevnost[cN/tex]
1	0,54	2,4	24	18,13	0,34	1,59
2	2,7	2,5	25	10,22	0,11	24,55
3	0,04	5,5	55	6,68	0,05	0,80
4	19,4	2,7	27	63,28	4,12	4,71
5	41,8	4,2	42	51,72	2,75	15,20
6	3,3	2,9	29	9,84	0,1	33,00
7	5,5	3,2	32	25,81	0,69	7,97
8	1,8	3,8	38	23,22	0,55	3,27
9	2,4	3,3	33	14,67	0,22	10,91
10	4,6	3,9	39	14,32	0,21	21,90
11	1,7	2,6	26	7,66	0,06	28,33
12	2,9	3,5	35	10,26	0,11	26,36
13	2,5	3,8	38	10,58	0,12	20,83
14	2,8	3,5	35	13,47	0,19	14,74
15	2,9	3,7	37	10,67	0,12	24,17
16	2	3,9	39	2,74	0,01	200,00
17	1,3	4,1	41	2,72	0,01	130,00
18	34,4	5,2	52	83,58	7,18	4,79
19	10,9	4	40	37,08	1,41	7,73
20	3	3,3	33	3,47	0,01	300,00
21	1,9	6,1	61	4,87	0,02	95,00
22	3,8	8,7	87	2,64	0,01	380,00
23	4,6	5,6	56	2,94	0,01	460,00
24	1,5	2,7	27	6,1	0,04	37,50
25	1,3	3,7	37	2,88	0,01	130,00
26	2,2	3,1	31	14,69	0,22	10,00
27	4,2	2,5	25	2,78	0,01	420,00
28	1,4	4,5	45	20,41	0,43	3,26
29	1,1	5,6	56	19,1	0,38	2,89

30	1,1	2,7	27	7,12	0,05	22,00
31	2,7	3,9	39	11,55	0,14	19,29
32	2,1	4,1	41	26,7	0,73	2,88
33	1,7	5,5	55	11,21	0,13	13,08
34	2	3,9	39	14,42	0,21	9,52
35	0,8	5	50	16,79	0,29	2,76
36	1,6	3,8	38	14,3	0,21	7,62
37	1,3	5,6	56	19,91	0,41	3,17
38	1,9	3,1	31	13,03	0,17	11,18
39	1,9	5,5	55	11,33	0,13	14,62
40	0,3	4	40	17,13	0,3	1,00
41	1,1	4,8	48	10,31	0,11	10,00
42	0,4	2,9	29	24,22	0,6	0,67
43	2,1	4,9	49	27,69	0,79	2,66
44	0,3	3,8	38	11,73	0,14	2,14
45	2,9	3,1	31	11,98	0,15	19,33
46	1,1	4,3	43	10,23	0,11	10,00
47	1	4,6	46	13,85	0,2	5,00
48	0,8	4,6	46	38,63	1,53	0,52
49	0,8	4,4	44	20,52	0,43	1,86
50	1,3	3,8	38	3,32	0,01	130,00
51	1,6	2,9	29	11,48	0,14	11,43
52	20,6	3,3	33	8,03	0,07	294,29
53	3,4	2,3	23	4,96	0,03	113,33
54	1,9	2,8	28	3,82	0,02	95,00
55	0,4	3,6	36	10,92	0,12	3,33
56	1,7	4,7	47	18,53	0,35	4,86
57	0,3	4,1	41	9,98	0,1	3,00
58	1,1	3	30	29,04	0,87	1,26
59	4	6,6	66	4,04	0,02	200,00
60	1,8	2,9	29	2,91	0,01	180,00
61	0,7	5,2	52	3,29	0,01	70,00
62	0,5	2,4	24	3,7	0,01	50,00
63	0,7	1,9	19	3,89	0,02	35,00
64	1	3	30	12,76	0,17	5,88
65	0,8	3,1	31	3,07	0,01	80,00
66	0,8	2,7	27	2,85	0,01	80,00
67	0,9	1,6	16	12,83	0,17	5,29

68	3,9	1,3	13	18,38	0,35	11,14
69	0,6	2,5	25	6,73	0,05	12,00
70	4,1	4,5	45	3,62	0,01	410,00
71	1,2	4,2	42	18,32	0,35	3,43
72	0,3	6,6	66	17,72	0,32	0,94
73	1,2	5,1	51	3,9	0,02	60,00
74	0,2	3,1	31	3,43	0,01	20,00
75	0,2	2,1	21	6,22	0,04	5,00
76	0,2	2,3	23	11,82	0,14	1,43
77	2,2	0,1	1	11,82	0,14	15,71
78	6,4	3,6	36	18,08	0,34	18,82
79	0,5	3	30	13,59	0,19	2,63
80	1,6	4,9	49	7,04	0,05	32,00
81	2,4	2,5	25	11,15	0,13	18,46
82	0,6	4,7	47	17,11	0,3	2,00
83	1,1	3,4	34	20,05	0,41	2,68
průměr	3,21	3,77	37,69	14,07	0,38	54,91
sm. Odch	6,38	1,31	13,07	12,98	0,95	101,67
var. Koeff	198,6	34,7	34,7	92,3	250,7	185,1
IS	1,37	0,28	2,81	2,79	0,20	21,87

#### 4. 2 Tabulka – přehled měření podzimních vláken

V tabulce č. 4.2 jsou uvedeny naměřené parametry pavoučích vláken: pevnost, prodloužení, tažnost, průměr vlákna, jemnost, relativní pevnost.

Vzhledem ke klimatickým podmínkám nebylo na podzim dostatek kvalitních vláken použitelných pro měření.

Číslo vlákna	Pevnost [cN]	Prodloužení [mm]	Tažnost [%]	Průměr vlákna [μm]	Jemnost [tex]	Relativní pevnost[cN/tex]
1	3,3	5,7	57	37,63	1,46	2,26
2	1,8	6,1	61	5,9	0,04	45,00
3	3,2	5,3	53	6,35	0,04	80,00
4	5,7	4,6	46	10,72	0,12	47,50
5	2,4	4,1	41	6,37	0,04	60,00



6	2,4	5,2	52	6,26	0,04	60,00
7	1,3	3	30	13,51	0,19	6,84
8	6,2	6,3	63	8,44	0,07	88,57
9	3,1	11,8	118	31,1	0,99	3,13
10	1,9	3,1	31	9,7	0,1	19,00
11	0,9	3,7	37	4,41	0,02	45,00
12	0,3	6,5	65	13,47	0,19	1,58
13	2,6	3,7	37	17,49	0,31	8,39
14	0,5	1,7	17	6,83	0,05	10,00
15	1	5,2	52	6,29	0,04	25,00
16	1,3	3,2	32	10,28	0,11	11,82
17	1,5	2,5	25	18,26	0,34	4,41
18	4,5	3,4	34	25,29	0,66	6,82
19	0,6	2,9	29	6,08	0,04	15,00
20	2,8	4,9	49	6,76	0,05	56,00
21	3,6	4,6	46	24,1	0,6	6,00
22	5,7	5	50	15,81	0,26	21,92
23	12	5,1	51	8,58	0,08	150,00
24	3,2	4,1	41	15,93	0,26	12,31
25	7,3	4,7	47	5,41	0,03	243,33
26	1	3,4	34	21,82	0,49	2,04
27	2,3	3,8	38	23,93	0,59	3,90
28	0,2	4,1	41	11,23	0,13	1,54
29	0,1	6,2	62	7,95	0,06	1,67
30	0,1	4,2	42	15,1	0,23	0,43
31	0,3	2,3	23	3,22	0,01	30,00
32	4,1	5,3	53	5,2	0,03	136,67
33	4,1	4,6	46	3,79	0,01	410,00
34	1,9	5,6	56	5,74	0,03	63,33
35	3,6	7,5	75	31,24	1	3,60
36	3,9	4,6	46	5,72	0,03	130,00
37	0,5	2,1	21	17,94	0,33	1,52
38	1,2	7	70	15,15	0,24	5,00
39	2,9	7	70	6,61	0,04	72,50
40	5,5	5,9	59	4,93	0,02	275,00
41	0,4	4,1	41	7,1	0,05	8,00
průměr	2,71	4,73	47,34	12,38	0,23	53,05
sm.	1,45	0,80	8,00	15,27	0,71	2,87

Odch						
var. Koef	53,5	16,9	16,9	123,3	306,8	5,4
IS	0,44	0,24	2,45	4,67	0,22	0,88

Variační koeficient u letních vláken činí 198,6 cN a u podzimních vláken 53,5 cN. Menší stupeň variability u podzimních vláken znamená malou vzájemnou různost, tedy velkou podobnost hodnot pevnosti měřených vláken. U těchto vláken se vyskytl největší průměr vlákna 37  $\mu\text{m}$ .

Větší stupeň variability u letních vláken znamená velkou vzájemnou různost, tedy malou podobnost hodnot pevnosti měřených vláken. U těchto vláken z letního období variační koeficient ovlivňuje několik vláken o větším průměru, který dosáhl až k 83  $\mu\text{m}$ .

Naměřené parametry byly statisticky zpracovány dle následujících vzorců č. 1 – 5.

**Průměr: (1)**

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

**Směrodatná odchylka: (2)**

$$S = \sqrt{s^2}$$

**Rozptyl: (3)**

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

**Variační koeficient: (4)**

$$V = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

**95% IS: (5)**

$$95\% \text{ IS} = \bar{x} \pm t_{(n-1)} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Dále byly počítány jemnost vláken a jejich relativní pevnost dle vzorců č. 6 - 7

**Relativní pevnost letních vláken: (6)**

$$f_r = \frac{F}{T} \text{ [cN} \cdot \text{tex}^{-1}]$$

**Jemnost: (7)**

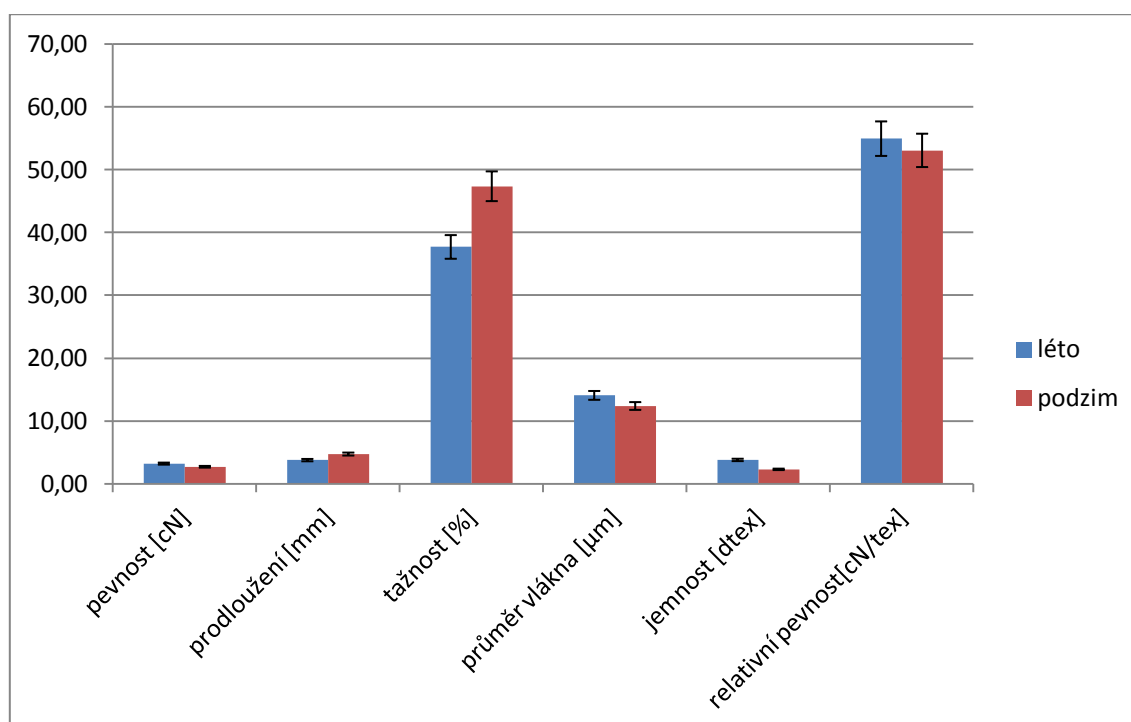
$$T = \frac{1}{4} \pi \cdot (\bar{d} \cdot 10^{-6})^2 \cdot \rho \cdot 10^6$$

$$\rho = 1310 \text{ [kg} \cdot \text{m}^3]$$

Byla použita hustota vlny z důvodu podobnosti bílkoviny.

Hodnoty **jemnosti** letních i podzimních vláken vycházejí velmi podobně, rozdíl je minimální. To znamená, že pavouci používají zhruba stejné složení vláken pro tvorbu pavučin za účelem chycení kořisti.

Hodnoty **relativní pevnosti** letních i podzimních vláken dosahují malého rozdílu. Můžeme tedy říci, že složení vlákna má vliv na jeho pevnost a dokazuje stejný účel použití, tedy ulovení potravy.



#### 4.1 Porovnání letních a podzimních vláken pro pevnost, prodloužení, tažnost, průměr, jemnost a relativní pevnost

#### 4.3 Tabulka pro konstrukci grafu - léto

Počet tříd	Hodnoty průměrů vláken ve třídě	Průměr vláken ve třídě	Počet hodnot ve třídě	Relativní četnost
j	$d_{jd} - d_{jh}$	$d_j [\mu m]$	$n_j$	$f_j [\%]$
1	2,64 – 13,85	7,62	53	63,86
2	14,3 – 24,22	20	19	22,89
3	25,81 – 37,08	29,26	5	6,02
4	38,63 – 38,63	38,63	1	1,2
5	51,72 – 51,72	51,72	1	1,2
6	63,28 – 63,28	63,28	1	1,2
7	83,58 – 83,58	83,58	1	1,2

Pro správné určení šířky intervalu bylo použito Sturgesovo pravidlo (vzorec č.8)

#### Rozdělení do tříd podle Sturgesova pravidla pro letní vlákna:

$$k = 1 + 3,3 \log n \quad (8)$$

$$k = 1 + 3,3 \log 83$$

$$k = 7,33$$

$$\underline{k = 7}$$

k = počet intervalů

n = počet měření

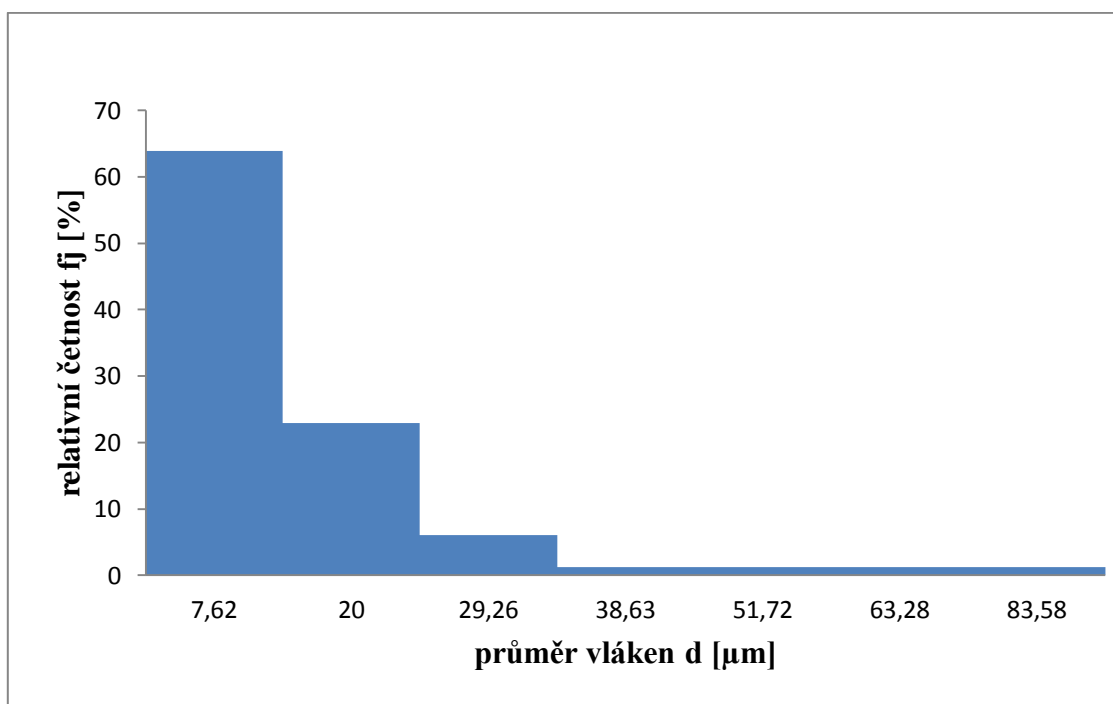
$$\text{Relativní četnost: (9)}$$

$$f_j = \frac{n_j}{n} \cdot 100 \quad [\%]$$

$n_j$  = počet hodnot ve třídě

n = celkový počet vláken

Pro „naznačení“ průběhu distribuční funkce průměrů sbíraných pavoučích vláken byly pro obě období sběru vytvořeny histogramy.



4.2 Histogram průměrů vláken - léto

4.4 Tabulka pro konstrukci grafu - podzim

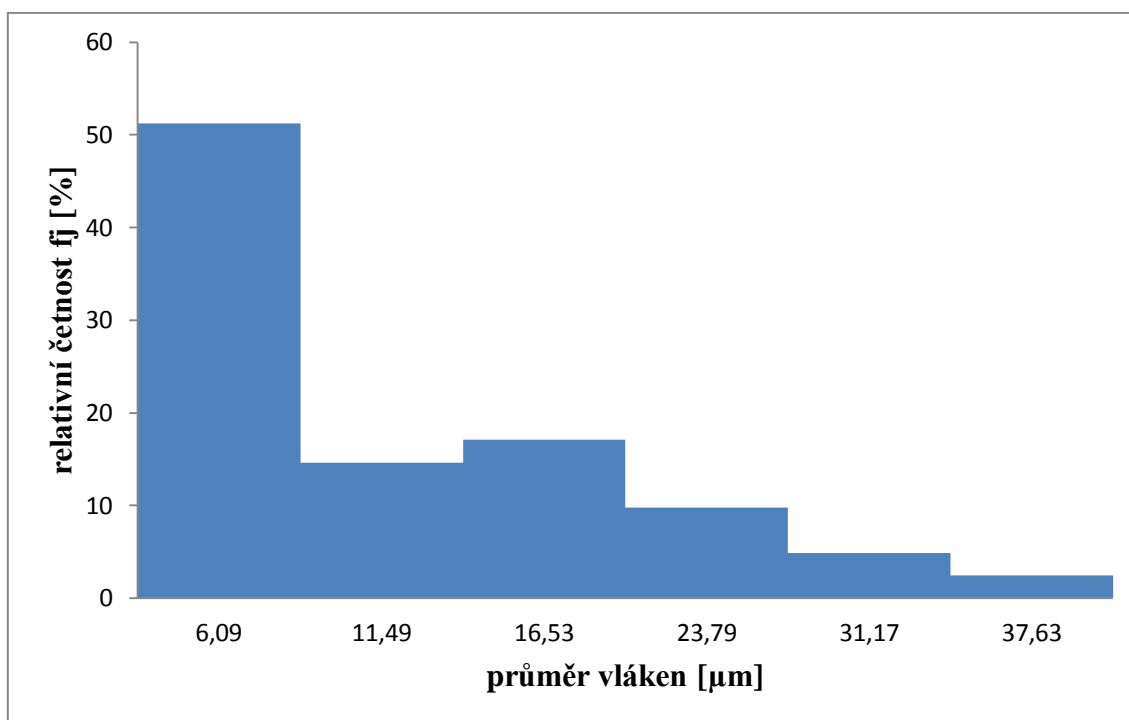
Počet tříd	Hodnoty průměrů vláken ve třídě	Průměr vláken ve třídě	Počet hodnot ve třídě	Relativní četnost
j	$d_{jd} - d_{jh}$	$d_j [\mu m]$	$n_j$	$f_j [\%]$
1	3,22 – 8,96	6,09	21	51,22
2	8,97 – 14,7	11,49	6	14,63
3	14,71 – 20,74	16,53	7	17,07
4	20,75 – 26,18	23,79	4	9,76
5	26,19 – 31,92	31,17	2	4,88
6	31,93 – 37,66	37,63	1	2,44

**Rozdělení do tříd podle Sturgesova pravidla pro podzimní vlákna:**

$$k = 1 + 3,3 \log 41$$

$$k = 6,32$$

$$\underline{k = 6}$$



4.3 Histogram průměrů vláken - podzim

Jako další byly sledovány závislosti mezi průměrem vláken a jejich pevností.  
Pro hodnocení závislosti byl použit výpočet korelace dle vzorce č.10

**Korelační koeficient: (10)**

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{\left[ n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right] \cdot \left[ n \sum_{i=1}^n y_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n y_i \right)^2 \right]}}$$

4.5 Tabulka pro výpočet korelačního koeficientu u závislosti pevnosti na průměru letních vláken

	<b>xi průměr vlákna [μm]</b>	<b>yi pevnost [cN]</b>	<b>součin xi, yi</b>	<b>xi<sup>2</sup></b>	<b>yi<sup>2</sup></b>
	18,13	0,54	9,79	328,7	0,29
	10,22	2,7	27,59	104,45	7,29
	6,68	0,04	0,27	44,62	0,0016
	63,28	19,4	1227,63	4004,36	376,36
	51,72	41,8	2161,9	2674,96	1747,24
	9,84	3,3	32,47	96,83	10,89
	25,81	5,5	141,96	666,16	30,25
	23,22	1,8	41,8	539,17	3,24
	14,67	2,4	35,21	215,21	5,76
	14,32	4,6	65,87	205,06	21,16
	7,66	1,7	13,02	58,68	2,89
	10,26	2,9	29,75	105,27	8,41
	10,58	2,5	26,45	111,94	6,25
	13,47	2,8	37,72	181,44	7,84
	10,67	2,9	30,94	113,85	8,41
	2,74	2	5,48	7,51	4
	2,72	1,3	3,54	7,4	1,69
	83,58	34,4	2875,15	6985,62	1183,36
	37,08	10,9	404,17	1374,93	118,81
	3,47	3	10,41	12,04	9
	4,87	1,9	9,25	23,72	3,61
	2,64	3,8	10,03	6,97	14,44
	2,94	4,6	13,53	8,64	21,16
	6,1	1,5	9,15	37,21	2,25
	2,88	1,3	3,74	8,29	1,69
	14,69	2,2	32,32	215,8	4,84
	2,78	4,2	11,68	7,73	17,64
	20,41	1,4	28,57	416,57	1,96
	19,1	1,1	21,01	364,81	1,21
	7,12	1,1	7,83	50,69	1,21
	11,55	2,7	31,19	133,4	7,29
	26,7	2,1	54,6	712,89	4,41

	11,21	1,7	56,07	125,66	2,89
	14,42	2	19,06	207,94	4
	16,79	0,8	28,84	281,9	0,64
	14,3	1,6	13,43	204,49	2,56
	19,91	1,3	22,88	396,41	1,69
	13,03	1,9	24,76	169,78	3,61
	11,33	1,9	21,53	128,37	3,61
	17,13	0,3	5,14	293,44	0,09
	10,31	1,1	11,34	106,27	1,21
	24,22	0,4	9,69	586,61	0,16
	27,69	2,1	58,15	766,74	4,41
	11,73	0,3	3,52	137,59	0,09
	11,98	2,9	34,74	143,52	8,41
	10,23	1,1	11,25	104,65	1,21
	13,85	1	13,85	191,82	1
	38,63	0,8	30,9	1492,28	0,64
	20,52	0,8	16,42	421,07	0,64
	3,32	1,3	4,32	11,02	1,69
	11,48	1,6	18,37	131,79	2,56
	8,03	20,6	165,42	64,48	424,36
	4,96	3,4	16,86	24,6	11,56
	3,82	1,9	7,26	14,59	3,61
	10,92	0,4	4,37	119,25	0,16
	18,53	1,7	31,5	343,36	2,89
	9,98	0,3	2,99	99,6	0,09
	29,04	1,1	31,94	843,32	1,21
	4,04	4	16,16	16,32	16
	2,91	1,8	5,24	8,47	3,24
	3,29	0,7	2,3	10,82	0,49
	3,7	0,5	1,85	13,69	0,25
	3,89	0,7	2,72	15,13	0,49
	12,76	1	12,76	162,82	1
	3,07	0,8	2,46	9,42	0,64
	2,85	0,8	2,28	8,12	0,64
	12,83	0,9	11,55	164,61	0,81
	18,38	3,9	71,68	337,82	15,21
	6,73	0,6	4,04	45,3	0,36
	3,62	4,1	14,84	13,1	16,81



	18,32	1,2	21,98	335,62	1,44
	17,72	0,3	5,32	314	0,09
	3,9	1,2	4,68	15,21	1,44
	3,43	0,2	0,69	11,76	0,04
	6,22	0,2	1,24	38,69	0,04
	11,82	0,2	2,36	139,71	0,04
	11,82	2,2	26	139,71	4,84
	18,08	6,4	115,71	326,89	40,96
	13,59	0,5	6,8	184,69	0,25
	7,04	1,6	11,26	49,56	2,56
	11,15	2,4	26,76	124,32	5,76
	17,11	0,6	10,27	292,75	0,36
	20,05	1,1	22,06	402	1,21
suma	1167,58	266,58	8481,63	30416	4234,812

$$\text{korelační koeficient } r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{\left[ n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right] \cdot \left[ n \sum_{i=1}^n y_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n y_i \right)^2 \right]}} \quad (10)$$

$$r = 0,6881890826 \approx 0,69$$

Výsledek

0,1 – 0,3 = slabá přímá závislost

0,3 – 0,7 = střední přímá závislost

0,7 – 1 = silná přímá závislost

Kladný výsledek = přímá závislost

Záporný výsledek = nepřímá závislost

**Průměr letních vláken má střední přímou závislost na pevnosti vláken.**

4.6 Tabulka korelační koeficient – závislost pevnosti na průměru podzimních vláken

	xi průměr vlákna [μm]	yi pevnost [cN]	součin xi, yi	xi <sup>2</sup>	yi <sup>2</sup>
	37,63	3,3	124,18	1416,02	10,89
	5,9	1,8	10,62	34,81	3,24
	6,35	3,2	20,32	40,33	10,24
	10,72	5,7	61,1	114,92	32,49
	6,37	2,4	15,29	40,58	5,76
	6,26	2,4	15,02	39,19	5,76
	13,51	1,3	17,56	182,52	1,69
	8,44	6,2	52,33	71,23	38,44
	31,1	3,1	96,41	967,21	9,61
	9,7	1,9	18,43	94,09	3,61
	4,41	0,9	3,97	19,45	0,81
	13,47	0,3	4,04	181,44	0,09
	17,49	2,6	45,47	305,9	6,76
	6,83	0,5	3,42	46,65	0,25
	6,29	1	6,29	39,56	1
	10,28	1,3	13,36	105,68	1,69
	18,26	1,5	27,39	333,43	2,25
	25,29	4,5	113,81	639,58	20,25
	6,08	0,6	3,65	36,97	13,32
	6,76	2,8	18,93	45,7	7,84
	24,1	3,6	86,76	580,81	12,96
	15,81	5,7	90,12	249,96	32,49
	8,58	12	102,96	73,62	144
	15,93	3,2	50,98	253,77	10,24
	5,41	7,3	39,49	29,27	53,29
	21,82	1	21,82	476,11	1
	23,93	2,3	55,04	572,64	5,29
	11,23	0,2	2,25	126,11	0,04
	7,95	0,1	0,8	63,2	0,01
	15,1	0,1	1,51	228,01	0,01
	3,22	0,3	0,97	10,37	0,09
	5,2	4,1	21,32	27,04	16,81
	3,79	4,1	15,54	14,36	16,81
	5,74	1,9	10,91	32,95	3,61

	31,24	3,6	112,46	975,94	12,96
	5,72	3,9	22,31	32,72	15,21
	17,94	0,5	8,97	321,84	0,25
	15,15	1,2	18,18	229,52	1,44
	6,61	2,9	19,17	43,69	8,41
	4,93	5,5	27,12	24,3	30,25
	7,1	0,4	2,84	50,41	0,16
suma	507,64	111,2	1383,11	9171,9	541,32

$$r = 7,5629508 \cdot 10^{-3} = 0,0076$$

**Průměr podzimních vláken má slabou přímou závislost na pevnosti vláken.**

### Diskuze – výsledné zhodnocení výsledků výpočtů a měření

Letní vlákna byla sbírána v období od června do srpna 2015. Převážnou část tohoto časového úseku panovaly nadprůměrné vysoké denní ( $35^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$ ) a noční teploty ( $25^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$ ), díky kterým byly pavouci pravděpodobně menšího vzrůstu a menšího počtu než v jiném teplotně průměrném letním období.

Bylo nasbíráno 83 letních vláken, z toho nejvíce vláken o průměru  $7\text{ }\mu\text{m}$  s relativní četností 64 %. Více jak o polovinu méně vláken o průměru  $20\text{ }\mu\text{m}$  s relativní četností 23 %. Ale vzácně se vyskytla vlákna o průměru  $50 - 80\text{ }\mu\text{m}$ , jejichž relativní četnost činila 1,2 %. Tato průměrově vzácnější vlákna byla pavouky používána hlavně k přemísťování z místa na místo.

Podzimní vlákna byla nasbírána v období od září do listopadu 2015 a jejich počet činil 41. Přestože už nepanovaly vysoké teploty, počet pavouků v přírodě byl velmi nízký, a pavouci nebyli velkého vzrůstu.

Největší počet vláken nasbíraný v tomto období byl zastoupen průměrem okolo  $6\text{ }\mu\text{m}$  s relativní četností 51 %. Největší průměr vláken činil kolem  $30\text{ }\mu\text{m}$  s relativní četností 2,4 %. Toto je velký rozdíl oproti vláknům letním, kde nejvyšší průměr vláken činil  $80\text{ }\mu\text{m}$ . Pravděpodobným důvodem tohoto rozdílu nebyla potřeba pavouků se přemísťovat. Většina vláken byla použita jen jako most nebo konstrukce sítí k lovu potravy.

Toto také vyplývá z histogramů průměrů vláken a jejich relativních četností. Vlákna byla rozdělena do tříd podle Sturgesova pravidla.

Dále byla statisticky zjištěna korelace průměru vláken na jejich pevnosti u obou skupin vláken (letní, podzimní). Korelační koeficient udává u letních vláken střední přímou závislost pevnosti na průměru a u podzimních vláken slabou přímou závislost pevnosti na průměru.

Jistě překvapí rozdílné průměry vláken. Ale jak již víme, tak pavouk produkuje vlákna, dle svého uvážení a potřeby. V případě vláken o velkých průměrech bylo až po přetržení vidět, že tato vlákna obsahují velký počet malých fibril. Jedná se většinou o vlákna nosná, určená k přepravě pavouka. V příloze na konci DP a CD jsou fotografie vybraných vláken s různým počtem fibril.

### 5 Závěr

Tělo pavouka je dokonalý spřádací stroj s „vlastním mozkem“. Zkoumáním a zpracováním pavoučího proteinu nám v budoucnu nabízí spoustu nových možností biologicky odvozených materiálů, které mohou být použity pro lékařské i nelékařské účely.

Z textilního hlediska je zajímavé nejen zvlákňování vlákna, ale i jeho chemické složení, na kterém se podílejí jak žlázy v těle pavouka, tak bradavky spolu se svými enzymy a pH prostředím.

Byly zde uvedeny příklady použití pavoučích vláken ve světě a pokusy získat přírodní cestou vlákna s pavoučím genem za pomoci jiných živočišných druhů. Jsou zde uvedeny výzkumy vědců z univerzity Šinsu v Naganu v čele s profesorem Masaem Nagakim, vědců z Cornell's Center for Advanced Technology, vědců z univerzity v New Hampshire, badatelů z firmy Nexia Biotechnologies ve Vaudreuil Dorion (Québec) a Materials Science Team U.S. Army, vědců z Institutu Maxe Plancka z německého Halle, vědců z Iowa State Univerzity, týmu profesora Xinweie Wanga za podpory výzkumného ústavu americké armády (U.S.Army Research Office) a týmu amerických vědců vedených J.M.Goslinem.

K měření a obrazové analýze byly použity přístroje vlákenná trhačka Digital Electronic Fiber Tester, Jenapol Carl Zeiss, JENA + PC, kde byly pořízeny i snímky natrhaných vláken pomocí Softwaru pro obrazovou analýzu NISE Elements.

V experimentální části byly zpracovány dvě skupiny vláken a to skupina nasbíraná v letním období a skupina nasbíraná v období podzimním. Bylo měřeno prodloužení vlákna, jeho pevnost, vypočítána jemnost a průměr. Data byla statisticky zpracována dle Sturgesova pravidla do tabulek a výsledky byly znázorněny histogramy. Dále byla zjištěna korelace průměru vláken na jejich pevnosti.

Ze získaných výsledků vyplývá – průměry vláken v obou obdobích se liší výskytem vláken o velkém průměru, i když s menší relativní četností. V letním období se vyskytuje nejvíce vláken s menším průměrem, což je dáno i velikostí pavouků ovlivněnou klimatickými podmínkami. Za období sucha pavouci trpí nedostatkem vody a pravděpodobně i potravy. Výskyt vláken s průměrem kolem 80  $\mu\text{m}$  naznačuje snahu pavouků se přemísťovat a potravu s vodou hledat.

V podzimním období se vyskytuje největší počet vláken s průměrem kolem 6  $\mu\text{m}$ , ale hojně jsou i zastoupena vlákna s průměrem od 10  $\mu\text{m}$  do 24  $\mu\text{m}$ , výjimečně se vyskytují vlákna kolem 30  $\mu\text{m}$ . Přesto je počet pavouků a tím i vláken ovlivněn nepřízní počasí v letním období.

Závěrem může být řečeno, že schopnost napodobovat vlastnosti, funkce a hlavně tvorbu pavoučího hedvábí prostřednictvím genového inženýrství a zpracování proteinu nabízí v budoucnosti možnosti pro rozšíření biologicky odvozených materiálů, které mohou být použity nejen pro lékařské, ale i nelékařské účely.

### **Typy pro další práce:**

Práce s pavoučími vlákny je časově náročná. Musí být správné roční období a klimatické podmínky pro jejich sběr (několika týdenní práce v terénu), manipulace s nimi a práce na přístrojích je velmi náročná na přesnost a pečlivost (mohou se snadno zničit).

Pro práce na tomto tématu by bylo vhodné změřit hustotu vláken pro přesnější výpočty jemnosti. Dalším krokem by bylo provést chemický rozbor a prvkovou analýzu. Také otestovat chemickou odolnost. Zjistit průřez vlákna a popsat další parametry pavoučích vláken, aby bylo možné co nejvíce napodobit pavoučí vlákna.

## Seznam obrázků

2.1 Umístění snovací žláz v těle pavouka.....	12
2.2 Vláknó vytvořené v mnichovské laboratoři.....	13
2.3 Thomas Scheibel.....	13
2.4 Křížák obecný.....	13
2.5 Bradavky a žlázy pavouka.....	14
2.6 Drápky na koncích končetin pavouka.....	15
2.7 Křížák obecný.....	15
2.11 Struktura C-konce a N-konce bílkovinných molekul.....	16
2.8 Struktura proteinu 3D.....	17
2.9 Obecný vzorec aminokyselin.....	17
2.10 Strukturní vzorec alaninu.....	17
2.12 Hlavní žláza pavouka.....	18
2.13 Pavouk Nephila clavies.....	22
2.14 Plášť z pavoučích vláken.....	22
2.15 Použití pavoučího hedvábí v biomedicíně.....	24
3.1 Kartičky s vlákny.....	26
3.2 Uložené vzorky pro experiment.....	26
3.3 Radiální a spirálová vlákna.....	27
3.4 Detail čelistí vlákenné trhačky Digital Electronic Fiber Tester.....	27
3.5 Digital Electronic Fiber Tester.....	27
3.6 Vláknó složené z fibril.....	28
3.7 Vláknó složené z fibril.....	28
3.8 Pomůcky pro obrazovou analýzu.....	28
3.9 Jenapol Carl Zeiss JENA.....	28
3.10 Detail JENA.....	29
3.11 JENA s pomůckami.....	29
4.1 Porovnání letních a podzimních vláken pro pevnost, prodloužení, průměr a jemnost.....	35
4.2 Histogram průměrů vláken – léto.....	36
4.3 Histogram průměrů vláken – podzim.....	37

## Seznam tabulek

4.1 Tabulka měření letních vláken.....	30
4.2 Tabulka měření podzimních vláken .....	32
4.3 Rozdělení do tříd – letní vlákna .....	35
4.4 Rozdělení do tříd – podzimní vlákna.....	37
4.5 Korelační závislost průměru vláken na pevnosti – letní vlákna.....	38
4.6 Korelační závislost průměru vláken na pevnosti – podzimní vlákna.....	41



## Použitá literatura

1. Felix, R.: *Biology of spiders*. Oxford University Press, Oxford and New York 2011.
2. Vollrath, F.: *Biology of spider silk*. International Journal of Biological Macromolecules, 3/1999, pag. 81 – 88.
3. Meloun, M., Militký, J.: Statistická analýza experimentálních dat. 2. vyd. Praha: Academia, 2004. ISBN 80-200-1254-0
4. LU, Baoyong, Jian ZHENG, Denglong CHEN a Min LI. Evaluation of a new type of wound dressing made from recombinant spider silk protein using rat models. In: *Burns* [online]. Sep2010 [cit. 2014-05-18] p. 891-6. Available from: EBSCO
5. SCHEIBEL, T. Production and processing of spider silk proteins. Biopolymers with application potential for the future. In: *International Polymer Science & Technology* [online]. 2012, Vol. 39 Issue 7 [cit. 2014-05-18] p. 41-43. Available from: EBSCO
6. SCHACHT, Kristin a Thomas SCHEIBEL. Processing of recombinant spider silk proteins into tailor-made materials for biomaterials applications. In: *Current Opinion in Biotechnology* [online]. Volume 29, 2014 [cit. 2014-05-18]. Available from: Science Direct
7. LAMMEL, Andreas, Martin SCHWABB, Markus HOFER, Gerhard WINTER a Thomas SCHEIBEL. Recombinant spider silk particles as drug delivery vehicles. In: *Biomaterials* [online]. Vol 32, Issue 8, 2011 [cit. 2014-05-18]. p. 2233-40. Available from: Science Direct
8. KLUGE, Jonathan A., Olena RABOTYAGOVA, Gary G. LEISK a David L. KAPLAN. Spider silks and their applications. In: *Trends in Biotechnology* [online]. Vol 26, Issue 5, May 2008 [cit. 2014-05-18]. p. 244-51. Available from: Science Direct
9. HSIA, Yang, Eric GNESA, Felicia JEFFERY, Simon TANG a Craig VIERRA. Spider Silk Composites and Applications. In: CUPPOLETTI, John. *Metal, Ceramic and Polymeric Composites for Various Uses* [online]. 2011 [cit. 2014-05-18]. p. 303-24. ISBN 978-953-307-353-8. Available from: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/16711.pdf>
10. Rozhovor se specialistou na pavouky Doc.RNDr.Jaromírem Hajerem, CSc. z katedry biologie Přírodovědné fakulty Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem vysílaný v Planetáriu, redakčně upraveno NEWTON Media, a.s.
11. *Fyzmatik* [online].2009, blog Molekulová fyzika [cit. 2014-5-4]. Dostupné na Word Wide web: <http://fyzmatik.pise.cz/73-pavouci-vlakno-jako-hitech-material.html>
12. Frederik, Velinský. *Planetárium* [online].2010, rubrika Příroda č.46, listopad [cit. 2014-5-4]:[http://www.rozhlas.cz/planetarium/priroda/\\_zprava/tajemstvi-pavouciho-hedvabi--823756](http://www.rozhlas.cz/planetarium/priroda/_zprava/tajemstvi-pavouciho-hedvabi--823756)

13. Jaroslav, Polakovič (<http://dero.name/>) *Písmák*, Amatérská literární tvorba 2014 [online] [obrázek, 2014-5-4]. Dostupné na Word Wide web: <http://www.pismak.cz/index.php?data=read&id=402173>
14. RNDr. Stanislav, Mihulka PhD., PřF JU, České Budějovice. Transgenní bourovci vytvářejí pavoučí vlákno. *Gate2Biotech* [online]. 2010, listopad [cit.2014-5-4]. Dostupné na Word Wide web: <http://www.gate2biotech.cz/transgenni-bourovci-vytvareji-pavouci-vlakno/>
15. Copyright, *Blog o všem co mi přijde pod ruku*. [online]. 2013-2014 [cit.2014-5-4]. Dostupné na Word Wide web: <http://bestblog.cz/obrazky-pavouku/>
16. HANZLOVÁ, Lenka. *Variabilita vlastností hedvábí produkovaného velkými ampulovitými žlázami pavouků* : bakalářská práce. Liberec: Technická univerzita, Fakulta textilní, 2013. 94, 2. příl.
17. <http://brezova.blog.idnes.cz/c/422304/Rozmotane-tajemstvi-pavuciny.html>  
29.6.2015

## Příloha

### Ukázky fotografií z obrazové analýzy zvětšení vláken

#### Parametry nastavení mikroskopu:

Objektiv = 20 x 0,40

Gama = 1,4

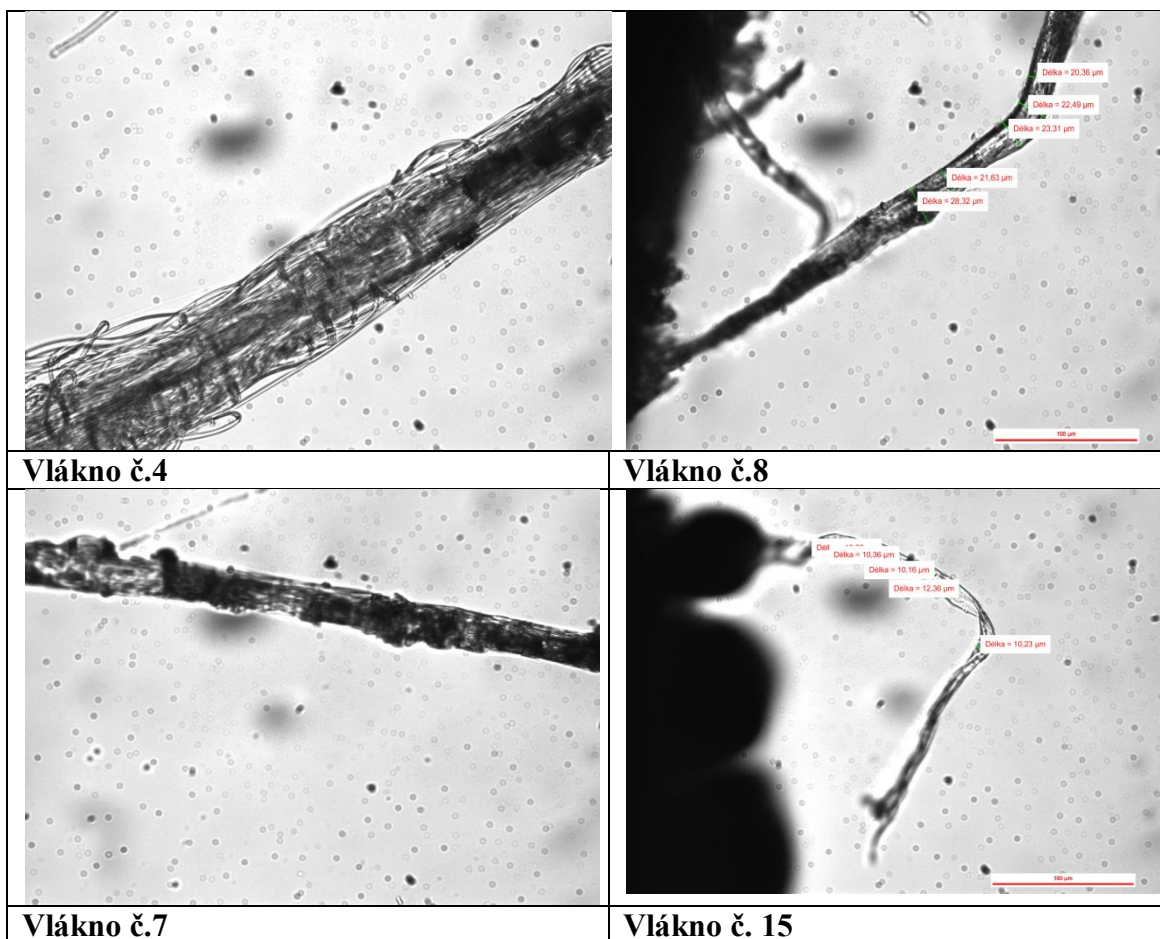
OF SET = 15

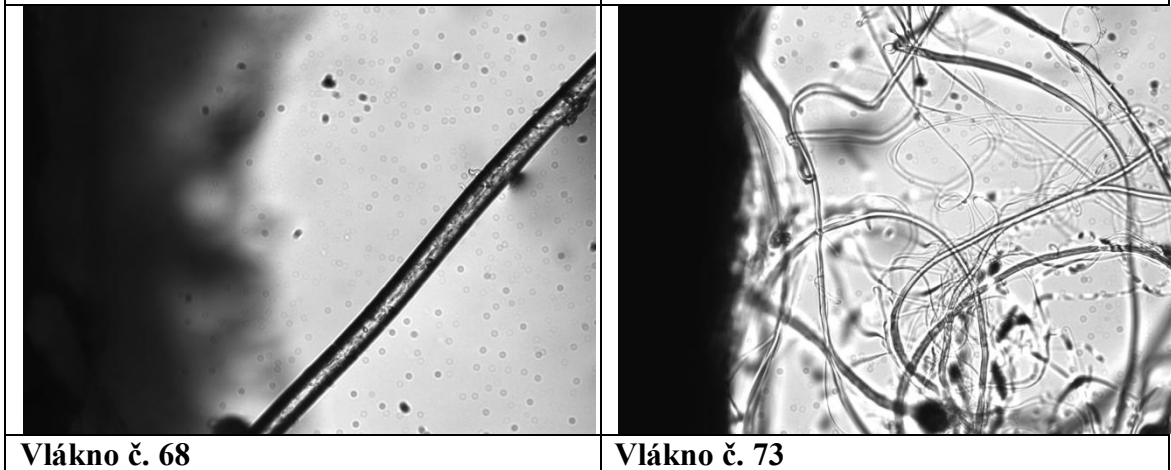
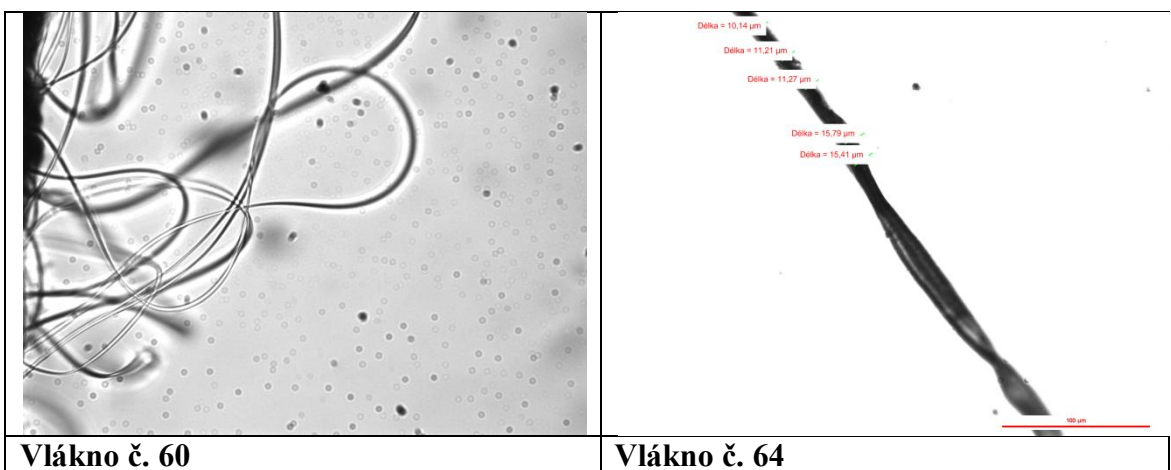
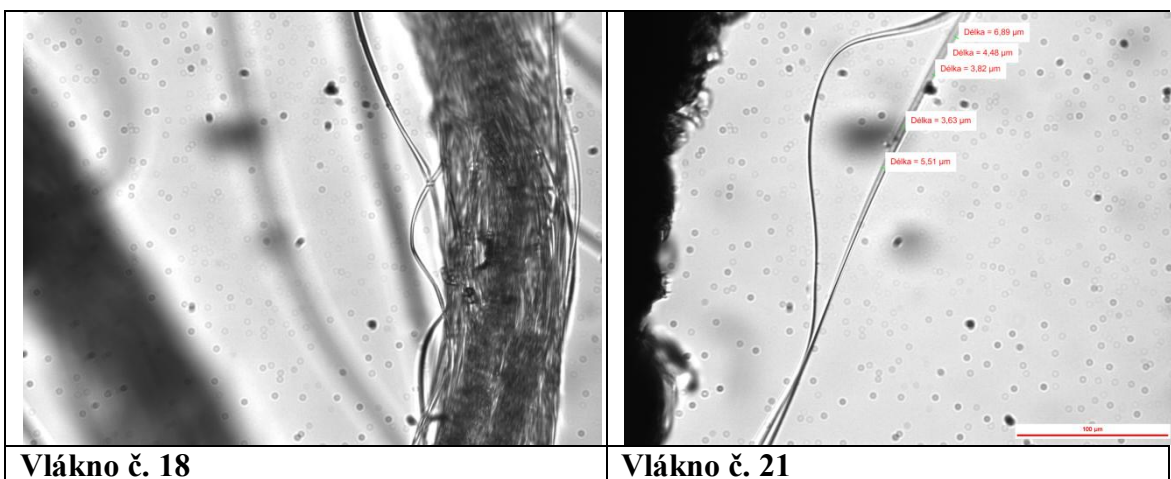
AVB = expoziční čas 60 ms

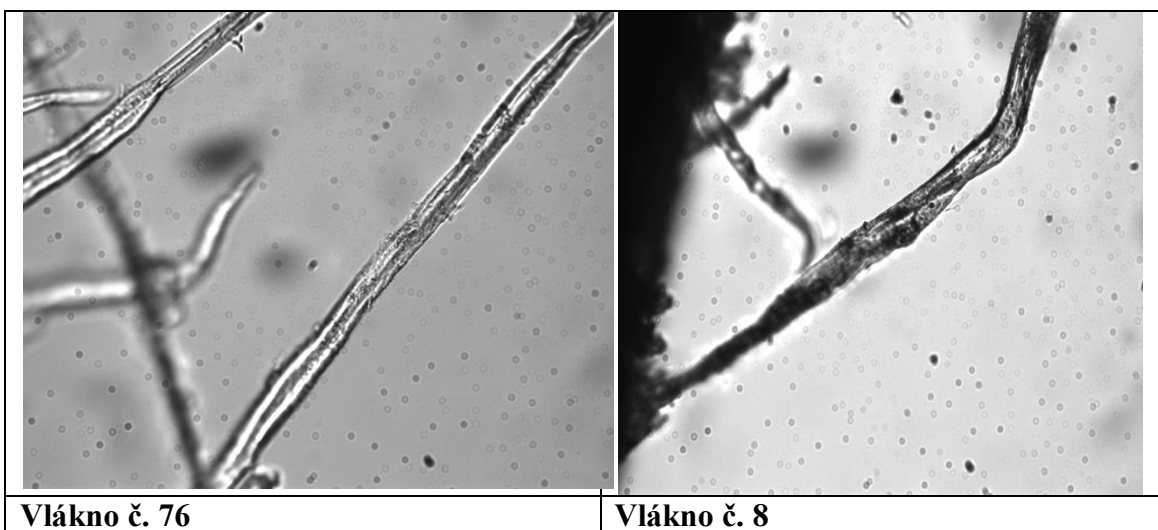
Auto Expozice = 70

ZISK = 1/2,35

### Ukázky fotografií z obrazové analýzy letních vláken









**Ukázky fotografií z obrazové analýzy podzimmních vláken**

